أساسيات
نقل التكنولوجيا فى الزراعة

إعداد

الدكتور
عبدالوهاب محمد عبدالحافظ
أستاذ الميكروبيولوجيا المتفرغ
ورئيس جامعة عين شمس السابق

الدكتور
محمد الصاوى محمد مبارك
أستاذ الميكروبيولوجيا المتفرغ
بزراعة عين شمس

مراجعه
الدكتور عبده السيد شحاته
أستـــاذ تكنولوجيا الألبان بقسم علوم الأغذية
وعميد كلية الزراعة – جامعة عين شمس

١٩٩٩

ع د سـ

(المحتويات)

الموضـــــوع **الصفحــة**

الجزء العملى

﴿مقدمة﴾

يهدف هذا المقرر إلى تعريف الطالب بأهم تطبيقات التكنولوجيا في المجالات الزراعية. ولاشك أن لهذا المقرر أهمية كبيرة في الحياة العلمية للخريج. ومن المعروف أن استخدام التكنولوجيا قديم قدم الإنسان ، وأن التكنولوجيا التي تستخدم في مختلف نواحي الحياة في تطور مستمر مع تطور حضارة ومعارف الإنسانية ، فعندما بدأ الإنسان في استخدام الأدوات المختلفة لتسهيل حياته وتطوير أدواته ، كان هذا تطورا في التكنولوجيا. هذا التطور سار في مسارات متدرجة في مختلف العصور ، ولكن التطور الذي حدث في النصف الثاني من هذا القرن ، تعادل آلاف المرات مع ما حدث من تطور في التقنيات التي استخدمها الإنسان في تسهيل وتطوير ظروف حياته على مدى تاريخه الطويل.

ويلاحظ إنه يستحيل على أي مقرر أن يضم حصراً لأهم التكنولوجيات التي يستخدمها الإنسان في مجال الزراعة ، وإن كان هناك مجال كبير لدراسة التطور التقني في الزراعة ، على مدى عديد من المقررات التي يدرسها الطالب خلال مساره في الدرجة الجامعية الأولى، سواء تلك التطورات المرتبطة بأدوات الزراعة من آلات إثارة التربة، وتلك المرتبطة بالزراعة الآلية بدرجاتها المختلفة ، والتقنيات الحديثة في الري والتسميد والحصاد والتداول في مختلف المحاصيل ، وفي معاملات ما بعد الحصاد وفي الصناعات الغذائية .

أما في مقررنا هذا ، فإننا سوف نركز على التطبيقات الرئيسية في مجال التقنية الحيوية Biotechnology ، تاركين المجال للمقررات المتعددة التي سوف يدرسها الطالب لتغطية نواحي التكنولوجيا الأخرى المرتبطة بالزراعة.

«الباب الأول»

التنمية التكنولوجيـــة

للتكنولوجيا تعريفات عديدة ، منها انها مجموعة المعارف والمهارات اللازمـــة لتصنيع منتج معين وإعداد الامكانات والوسائل اللازمة لذلك ، اعتماداً على معـــارف وخبرات العاملين فى هذا المجال .

والتكنولوجيا إما أن تكون محلية ، حيث يتم تطوير واستحداث إمكانات تســاعد الإنسان فى مختلف مجالات عمله وإنتاجه ، أو منقولة من مصادر خارجية وتطويعــها لتتوافق مع ظروف المجتمع والإمكانات البشرية المتاحة والتكلفة وإمكانات الصيانة ... الخ .

ورغم أن استيراد وتطويع التكنولوجيا الأجنبية يعطى مردوداً سريعاً ، إلا أنــه يعاب عليه أنه أقل أثراً فى التنمية التكنولوجية للمجتمع ، وفى بناء قاعدة قويه للتقـدم ، كما أنه يزيد من الحاجة الى الإستيراد . وقد أثبتت تجارب العديد من الـــدول الناميــة التى قطعت شوطاً كبيراً فى التنمية مثـل الـهند وكوريـا الجنوبيـة ، نجـاح تبنـى تكنولوجيات محلية ، تعتمد على مراكز البحث العلمى والتكنولوجيا المحليـة ، بحيـث تصبح ملائمة لظروف المجتمع وإمكانياته ، وتساعد على تنمية القدرات العلمية والفنية فيه ، كما أن مثل هذه التكنولوجيات المحلية غالباً ماتكون أرخص كثـيراً مـن تلـك المستوردة ، وأسهل فى الصيانه والتطوير ، وتلائم ظروف توفـر الأيـدى العاملـه الرخيصة نسبياً والأقل نسبياً فى مستواها الثقافى والفنى . ويلاحظ أنه رغم أن إنتـاج وتطوير تكنولوجيات محلية ، يكون بطيئاً نسبياً فى تطويـر الإنتـاج عـن اسـتيراد التكنولوجيا من الدول المتقدمة ، إلا أنه على المدى القصير والطويـل ، فـان العـائد التقنى على المجتمع وعلى التنمية البشرية واكتساب الخبرة ، يكون أكثر اهمية .

ورغم هذه المقارنة بين استيراد التكنولوجيـا وانتـاج وتطويـع التكنولوجيـا المحلية، فإننا نرى أن مصر فى سعيها نحو دخول القرن الحـادى والعشـرين بثقـه وعملها لبناء إقتصاد سليم متين ، والوصول الى مجتمع أكثر رفاهية ، فإنها يجـب أن تزاوج بين استيراد بعض أنواع التكنولوجيا العالية المتاحة فى الدول المتقدمة ، وبيـن الإعتماد على القدرات الذاتية فى بناء تكنولوجيات مصرية ، خصوصاً مع توفر قـاعدة علمية وفنيه ضخمة فى مصر ، تسمح بأن يكون لنا تكنولوجيات خاصة ، بل أن نكون أحد المصادر الأساسية للتطوير التكنولوجى فى المنطقة العربيـة بـل وفـى افريقيـا والشرق الأوسط ، على أن نراعى فى التكنولوجيا المستوردة أن لايتم استخدامها كمـا هى ، لأننا فى هذه الحالة سوف نكون مجرد مستخدمين لمثـل هـذه التكنولوجيـا

المتقدمـــة ، دون استيعاب حقيقى لها ، وإنما المطلوب هو الفهم الكـــامل لمثـــل هـــذه التكنولوجيات وتطويرها وتطويعها ، لتلائم ظروف وإمكانات مجتمعنا ونعتبرها خطـوه على الطريق نحو الاعتماد على الذات بأسرع مايمكن .

ويلاحظ فيما نضطر لاستيراده من تكنولوجيات ، أن يسبق ذلك تحديد مـــدى الحاجة اليها وتوقيت استيرادها ، وتكلفتها وعائدها وإمكانيات تكاملها مع التكنولوجيـــا المتاحة محليا .

ولعله من الخطوره ، أن يتم استيراد التكنولوجيا بنظام مايسمى بتسليم مفتـاح ، وإنما نستورد مالا نستطيع إنتاجه محليا ، ليتكامل مع غيره من المكونـــات المحليـــة ، وبهذا يكون معنى الإعتماد على الذات هو الإقلال تدريجيا من الاعتماد على الغـــير . ويجب أن تضمن عقود استيراد التكنولوجيا ، أن تساعد الجهة الموردة علـــى تطويـــر القدرات الذاتيه للصناعة القائمة .

ويلاحظ أن محاولة تطوير التكنولوجيا المحلية ليـس الغـرض منـه مجـرد الكبرياء القومى فقط – رغم أهميته – ولكن يجب أن نضع فى إعتبارنا أن التطـــور التكنولوجى العالمى المذهل الذى نعيشه فى عصرنا الحالى وفى المســـتقبل ، ســـوف يكون الحصول عليه باهظ التكاليف ، بحيث قد يكون عائقا كبيرا لخطط تنمية الـــدول النامية – وفى نفس الوقت ، فان قوانين التجاره العالمية بعد اتفاقيات الجات ، ســـوف تجعل من المستحيل أن تقوم الدول النامية بالحصول على التكنولوجيـــا مـــن الـــدول المتقدمة ثم تطويرها أو تقليدها ، حيث لن تسمح قوانين التجاره الدولية بذلك ، محافظة على الحقوق الفكريه للمنتج الأصلى ، وبهذا لو لم نحاول تبنى تكنولوجيا خاصة بنـــا ، وبناء قاعده تكنولوجية قوية سوف يكون الثمن باهظا . وفى نفس الوقت ، فان نجاحنـــا فى الوصول الى قاعدة تكنولوجيه محلية قوية ، سوف يكون عائدا كبيرا على الإقتصاد القومى بحيث نصبح دولة منتجة للتكنولوجيا ومصدرة لها .

التنمية التكنولوجية

أ – فى مجال الصناعة

نقل التكنولوجيا وتطوير قطاعات الإنتاج فى مصر

تسعى مصر الى تطوير نفسها فى مختلف المجالات ، ولقد قطعت مصر فـــى العقدين الأخيرين شوطا كبيرا فى التطور الصناعى والتكنولوجى ، وإن كانت الفجـوه لازالت كبيرة بيننا وبين الدول الصناعية المتقدمة ، إلا أننا نسعى حثيثا لتضييق هـــذه

الفجوه لنضع مصر فى مركزها اللائق بيـــن الـــدول المتقدمـــة . وقضيـــة التنميـــة التكنولوجية تعتبر مسألة مصير بالنسبه لمصر ، ونحمد الله على أن التقدم التقنى فـــى مصر يسير فى طريقه المرسوم ، ولعل أقرب مثال لذلك هو أن إنتاجنا الصناعى ينمو بمعدل ممتاز ، وأصبح القطاع الصناعى بامكاناته التصديرية يمثـــل أحـــد المصـــادر الرئيسية للعملات الأجنبية اللازمة لخطط التنمية ، كما أقيم فى مصــــر مئـــات مـــن المصانع فى عديد من المدن الصناعية الهامه التى تنتج بهدف التصدير ، علاوة علـــى الإنتاج لتغطية الاحتياجات المحلية .

ولكى نصل الى تنمية تكنولوجية جيدة لمصر ، فقـــد تـــم وضـــع عـــدد مـــن التوصيات الهامه من خلال لجان نقل التكنولوجيـــا فـــى أكاديميـــة البحـــث العلمـــى والتكنولوجيا المصرية ، نذكر منها مايلى :

١- حصر الإمكانات المتاحة فى وحدات البحوث والتطوير، بالشـــركات الصناعيـــة ومراكز البحوث والجامعات ، والتنسيق بينها ودعمها من خلال استراتيجية عامـــه للدولة .

٢- التوسع فى إنشاء وتدعيم المكاتب والمؤسســـات الإستشـــاريه وبيـــوت الخـــبره المتخصصة ، وخصوصا فى مجال تخطيـــط وتصميـــم المشـــروعات واختيـــار التكنولوجيات ، ووضع الضوابط اللازمه لحسن الأداء .

٣- بالنسبة لمراكز البحوث الصناعية ، يجب إزالة المعوقـــات للإســـتغلال الكـــامل لامكاناتها ، واصلاح هياكلها التنظيمية وتوفير الاستثمارات اللازمة لها ، وتقييـــم أوجه النشاط , والربط بين هذه المراكز .

٤- إنشاء وحدات متخصصة على مستوى الصناعة ، لخدمة مراحل التنمية الصناعية وصياغه المشروعات وعمل دراسات الجدوى ، والتفاوض والتعقـــد والإشـــراف على التنفيذ .

٥- متابعة لإتجاهات التكنولوجية والتطورات العالمية فى الصناعة ، لدراسة وتقييـــم مدى ملاءمتها للإنتاج المحلى .

وفى حالة نقل تكنولوجيا أجنبيه للصناعات المصرية ، فإنه يجـــب ملاحظـــة مايلى للوصول الى الاستفاده المطلوبه من هذه التكنولوجيا :

اختيار التكنولوجيا الملائمة ونقلها بأفضل الشروط المالية والفنية والاقتصاديـه، والتأكد من وجود القدرات التكنولوجيه والتنظيميـــة المحليـــة التـــى تتولـــى تطبيـــق التكنولوجيا المستورده ، وتعمل على تطويعها لتحقيق الأهداف القومية ، والعمل علـــى أن تكون مدعمه لقدرات التكنولوجيا الذاتيه ، وأن تعمل التكنولوجيا المستورده علـــى تقوية التكنولوجيا المحلية وليس العكس ، حيث لوحظ فى أحوال كثـــيره أن اســـتيراد

التكنولوجيا الأجنبيه ، يضعف التكنولوجيات المحليـــة ، ويؤثـــر علـــى اقتصاديـــات الصناعات المحلية .

والنقل الجيد والمفيد للتكنولوجيا المستوردة ، والذى يدعم التكنولوجيا المحليـــة يمكن أن يتم بعدة طرق :

١- الاستثمار الأجنبى وإنشاء فروع الشركات الأجنبية فى مصر .

٢- المشروعات المشتركة .

٣- الحصول على تراخيص وطرق تصنيع وحقوق معرفة وآلات واشراف وتدريـــب للمشروعات الصناعية .

٤- اتفاقيات المعونه الفنية .

ويلاحظ عند إستيراد التكنولوجيا الأجنبيه ، الحرص الشديد عنـــد التفـــاوض والتعاقد ، وذلك نظراً لأن الدول المتقدمة تكنولوجياً عادة ماتضع شـــروطاً مجحفـــه ، أمام الدول النامية فى مجال نقل التكنولوجيا ترهق اقتصاديات هذه الـــدول الفقـــيره ، وكثيراً ماشكت الدول الناميه من هذا الإجحاف ، مما حدى بالجمعيـــة العامـــه للأمـــم المتحـــده مـــن أن تصدر توجيهين لمؤتمر التجاره والتنمية التـــابع للأمـــم المتحـــدة United Nations Conference on Trade and Development (UNCTAD) ليضع مشروعاً لتقنين سلوك نقل التكنولوجيا ، يلتزم به مورد التكنولوجيا ومســـتوردها لمنع المغالاة فى الشروط بين الطرفين ، ولكن للأسف لم يتـــم هـــذا التقنيـــن بســـبب الخلافات الحاده بين الدول المتقدمة والدول النامية .

ولكى نبين مدى صعوبة الاشتراطات التى تضعـــها الـــدول المتقدمـــة لنقـــل التكنولوجيا ، نلاحظ أن الإتفاقيات التى تعقد تضم نقاطاً أساسية أهمها :

١- الأتاوة Royalty :

تعتبر الأتاوة أهم الشروط التى تضعها الدول المتقدمة أمام نقل التكنولوجيا ، وهـــى القيمة التى يطلبها مورد التكنولوجيا من الجهة المستوردة فى مقابل نقل التكنولوجيا إليها ، وهى قد تكون فى شكل مبلغ اجمالى أو أتاوه جاريه خلال مـــدة الانتـــاج ، وقد تجمع بين الشكلين السابقين . والشكل الشائع فى الإتفاقيات هو الترخيص بنقـــل التكنولوجيا الى الجهة المستفيده ، فى مقابل ٥-١٠% من ســـعر بيـــع المنتـــج ، ويلاحظ أن هذه النسبة مغالى فيها ، كما أنها ليست فى صـــالح الـــدول الناميـــة ، خصوصا إذا علمنا أن إنتاج الكثير من المنتجات الصناعية داخل الدول الناميـــة ، كثيرا مايكون مكلفا بحيث يكون سعر البيع محليا أعلى من السعر العالمى . وعندما

تأخذ الجهة الموردة نسبة من سعر البيع ، على أساس كمية الإنتاج وليـــس علـــى الكمية التى يتم توزيعها فعلا ، فإن هذا يمثل ظلما فادحا ، فـــهى تســتفيد مرتيـــن الأولى من التكلفة العاليه للإنتاج فى الدول الناميه ، والثانية فى أخذها نسبه علـــى الإنتاج حتى لو لم يباع جزءا منه .

وعادة ماتتضمن شروط الجهه الموردة ، إعطائها الحق فـــى دخـــول المصنـــع والاطلاع على الدفاتر والحسابات والميزانيات وفواتير البيع ... الـــخ ، بغـــرض التحقق من قيمة الأتاوه المستحقه ، وكثيرا مايمثل هذا الحق عبئـــا بغيضـــا علـــى الصناعة فى البلاد النامية ويمثل أيضا أزمه ثقه .

أما فى حالة دفع مبلغ إجمالى علاوة على الأتاوه الجارية ، فانه يمثـــل عبئـــا إضافيا على الجهة المستوردة ، حيث يمثل المبلغ الاجمالى الذى يدفع دفعه واحـــدة عند التعاقد ، نسبة مؤثرة فى رأس المال الذى كان من الممكن أن يساعد الصناعـــة الناشئة .

٢- مدة الإتفاق :

تعتبر مدة الإتفاق من المشاكل الرئيسية لإتفاقيات نقل التكنولوجيـــا ، إذ يجـــب أن لاتكون المدة قصيره بحيث لاتتيح للصناعة الناشئة استيعاب التكنولوجيـــا الجديـــدة والاستفادة من تكاليف التدريب ، ومرور مدة مناسبة حتى تثبت الصناعة الناشـــئة اقدامها فى السوق المحلى . كما يجب أن لاتكون طويلة أكثر مـــن الـــلازم حتـــى لايستمر المستورد فى وضع أتاوات لمدة طويلة ، تمثل أعباء مالية لامـــبرر لـــها خاصة إذا كانت التكنولوجيا المطلوبه سوف تفقد الحمايه القانونية لبراءة الاخـــتراع خلال هذه المدة وتصبح متاحة للجميع .

وبالطبع فان المورد الأجنبى يصر على أن يكون التعاقد لمدد طويله أكثر مـــن اللازم ، قد تصل الى أكثر من عشر سنوات . وهذه المده الطويلة تمثل ظلما للدول الناميه . والمعتقد أنه لايجب أن يزيد مدة العقد عن خمس سنوات ، حيث أنه يحدث تطورات وتحسينات كثيره فى الصناعة ، بحيث يمثل التعاقد الطويل عبئـــا يحـــول دون تطور الصناعة . ويجب أن يراعى أن لايتضمن العقد بين المورد والمســتورد ، شرطا بأن لايستمر الانتاج بعد إنتهاء المدة المتفق عليها ، لأنه خلال مدة العقـــد عادة مايكون المستورد قد دفع ثمنا كافيا ومجزيا لنقل التكنولوجيـــا المســـتوردة ، بحيث يصبح من حقه الإستمرار فى الإنتاج دون دفع أتاوات جديدة .

٣- ضمانات الانتاج والتكنولوجيا :

يجب أن يتضمن العقد مستندات تؤكد حقوق نقل التكنولوجيا ، وإمكانـــات تحقيــق أرقام الإنتاج المتفق عليها فى العقود ، وجودة المنتج مع وصـــف دقيــق للمنتــج ولجودته وإمكانية التعويض ، عندما لايتحقق الإنتاج المطلــوب . كمــا يجــب أن يتضمن العقد عدم تعرض الصناعة الجديدة للمسئوليه تجاه الغير ، وعدم حدوث أى اعتداء على حقوق ملكية الغير .

٤- نظام حق المرخص له :

يجب أن يكون واضحا فى بنود الاتفاقيه أن يستأثر المســتورد للتكنولوجيــا بحــق الإنتاج ، وألا يمنح هذا الحق لغيره داخل حدود دولته أو الاقليم المتفق عليه .

٥- نظام التحكيم :

يجب أن تضم الاتفاقيه نظاما للتحكيم عند حدوث خلافات ، وأن يتم التحكيــم فــى البلد المنقول اليها التكنولوجيا ، أو أن يكون فى بلد محايد حسب ظروف الإتفـــاق ونوع المنتج .

ب - فى مجال الزراعة

نقل التكنولوجيا فى مجال الزراعة

يعتبر قطاع الزراعة فى مصر ، من أكثر القطاعات التى توليها الدوله إهتماما لتطويرها علميا وتكنولوجيا وفنيا ، وأيضا تطوير القوى البشرية العامله فى هذا القطاع على جميع المستويات ، سعيا بالوصول بالإنتاج الزراعى الى الإكتفـــاء الذاتــى فــى المحاصيل الاستراتيجية ، وأيضا إعطاء دفعه لتصدير الحاصلات الزراعية التقليديـــة وغير التقليدية .

وكما يعلم الجميع ، فان الفلاح المصرى فــــلاح دؤوب ، وكـــانت الزراعـــة المصرية على مدى التاريخ عنوانا لتقـــدم الحضـــاره المصريـــه . ولقــد تطــورت التكنولوجيا الزراعية فى مصر على مدى التاريخ لتلائم احتياجات كل عصر ومعطياته

. وكما يعلمنا التاريخ ، فقد عاش الفلاح المصرى منذ فجر التاريخ وانتقال البشرية من حقبه الصيد الى الزراعة ، محاولا أن يدعم استقراره فى قريته وأن يحقق الإنتاج الزراعى كفايته هو وأسرته . وقد واجهته فى بداية استقراره الزراعى مشاكل الفيضان الذى يطغى على القرى البدائية التى يعيش فيها ، فبدأ ينشىء القرى فى المناطق المرتفعه ويحيطها بالجسور لحمايتها ، ثم حاول أن يستفيد من مياه الفيضان ، فهداه فكره الى فكرة رى الحياض ، وهى فى وقتها تمثل تكنولوجيا متقدمة فى عصر يعيش العالم من حولنا فى ظلام وبدائيه ، فأحاط الأراضى بالجسور مكونا أحواضا بها فتحات تدخل منها مياه الفيضان ، لتغمر الأرض طوال فترة الفيضان ، ثم يتم تصريف المياه بعد أن تتشبع الأرض بالمياه ويترسب عليها الغرين ، ويتم زراعتها بالمحاصيل.

ولما كانت أراضى الحياض لاتزرع إلا موسما واحدا بمحاصيل محددة ، فمع تقدم الزراعة وزيادة عدد السكان ، تطلب الأمر أن يتم زراعة الأراضى لأكثر من موسم زراعى وبمحاصيل متنوعه صيفية وشتويه ، وكان لابد للمصرى القديم من أن يبحث عن تقنيات جديدة تلائم زراعة أكثر تقدما ، فبدأ يعد الآلات اللازمة لرفع المياه من النيل فى غير موسم الفيضان ، فأخترع الشادوف والطنبور والساقية ، ثم أخترع الفأس والمحراث والآلات اللازمة لتسوية الأرض حتى تلائم عمليات الرى ، وقد نتصور أن هذه الآلات والتقنيات بسيطة عندما ننظر اليها من منظورنا الحالى ، ولكنها فى وقتها كانت تعتبر آلاتا وامكاناتا متقدمه جدا ، وعلينا أن نتذكر أن التكنولوجيا الملائمة فى أى زمان ، هى مايتوافق مع الامكانات البشريه والفنيه فى هذا العصر ، مادامت تفى بالغرض .

وأستمرت عمليات تطوير الزراعة على مدى العصور ، وان إرتبط أغلبها فى تطوير طرق الاستفادة من مياه النيل ، وتحسين طرق الرى وخدمة الأرض . فأقام المصريون القناطر بغرض رفع المياه وتنظيم توزيعها على الترع ، التى أقاموا منها شبكة واسعة تغطى احتياجات الزراعة المصرية . ثم انتقل جهدهم الى تخزين المياه فأقاموا سد أسوان وتعليته ، ثم تحدى المصريون العالم بإقامة السد العالى ، وباستخدام أعلى التقنيات المتاحة لإقامة السدود ومحطات توليدالكهرباء – هذا السد ليس له مثيل على مستوى العالم حتى الآن . من كل هذا يتضح أن هيرودوت عندما وصف مصر بأنها "هبة النيل" ، فإنه قد أخطأ فى حق المصريين ، لأن "مصر هبة المصريين" الذين وهبهم الله هذه القدرات المتميزه الخلاقه وحب البناء والتجديد . فالعالم ملىء بالأنهار بل أن بعضها أكبر وأضخم من النيل ، ولكن لم يقم أى شعب من الشعوب بما قام به المصريون من تنظيم وضبط لمياه النيل ، والوصول الى أقصى استفادة وخلق تكنولوجيات متطوره لحسن ادارة المياه والزراعة . ثم يصل فى نهاية القرن العشرين الى تحد أعظم ، وهو محطة الرفع العملاقة التى تمثل أعلى التقنيات فى رفع المياه والاستفاده منها فى مشروع توشكى العملاق ، الذى يمثل تحديا سوف تنتصر فيه ارادة

وعلم ومقدرات شعبنا العظيم ، وقيادته الواعيه الحريصة على مستقبل الأجيال القادمة.

ولم تقف قدرات مصر عند تحدى نهر النيل واستئناسه وتنظيم مياهه ، ولكن التطور التكنولوجى فى الزراعة قد تطور على مدى العصور ، من استخدام الوسائل البدائية وحيوانات الجر فى عمليات الخدمه الزراعية ، الى استخدام أحدث الآلات فى الرى وخدمة الأرض وآلات التسطير ومقاومة الحشائش والآفات الزراعية ، الى استخدام أحدث التقنيات فى إنتقاء البذور عالية الإنتاج ، الى استخدام الاستشعار عن بعد والأقمار الصناعية فى دراسة الأراضى والمياه الجوفية ، واستخدام الليزر فى تسوية الأراضى للحد من استهلاك المياه .

ولاشك أن هذا التقدم الزراعى ، كان محصله سياسة رشيدة وتعاون وتناسق بين الجهات البحثيه فى مركز البحوث الزراعية ، ومراكز البحوث الأخرى المختلفة والجامعات ، من أجل تحسين الانتاج الزراعى كما وكيفا . ويمتلك قطاع الزراعة فى مختلف الجهات العلمية ، أحدث ماأنتجه العلم من معامل ومعدات فى خدمة البحث العلمى الزراعى ، وذلك فى ظل دولة تعطى الإنتاج الزراعى كل المقومات اللازمة للنجاح .

وفى ظل هذه الظروف والإمكانات والبحث العلمى المتطور ، زاد الانتاج الزراعى ، وضاقت الفجوه الغذائية بين الإنتاج والاستهلاك ، وزاد معدل التصدير من المحاصيل الزراعية ، ولقد أدت هذه السياسة الى ارتفاع كبير فى إنتاجية الفدان فى مصر ، علاوة على زيادة المساحة المنزرعة باطراد . فعلى سبيل المثال ، زاد متوسط إنتاج فدان القمح من ٦ أرادب فى الثمانينات الى أكثر من ١٥ أردب للفدان فى الوقت الحاضر ، وذلك بالطبع نتيجة التحسين المستمر فى تقنيات الانتاج الزراعى من انتاج التقاوى عالية الجودة ، الى الخدمه الممتازه ومقاومة الآفات والتسميد المتوازن . وقد أرتفع انتاج مصر من الحبوب بحيث تضاعف فى العشر سنوات الأخيره ، ليصل الى أكثر من ١٦ مليون طن حبوب سنويا ، وأصبح انتاج مصر من الخضر والفاكهه يضارع أعلى مستويات الإنتاج العالمية كما ونوعا .

وسيمفونيه التقدم الزراعى فى مصر متصلة ، ويصعب تعداد أوجه النجاح فيها ، ولكن يجب أن نشير الى أن لمصر دورا رائدا تشارك فيه الدول المتقدمه فى التكنولوجيا الحيوية ، بإستخدام أساليب الهندسة الوراثية فى تحسين الانتاج النباتى والحيوانى ، الى استخدام أساليب زراعة الأنسجة لإكثار الأصناف النباتية الممتازة الخالية من الأمراض ، الى استخدام المقاومه الحيوية للآفات كأحد البدائل لتقليل استخدام المبيدات محافظة على البيئة وصحة الإنسان ، وسوف يناقش فى مواضع أخرى من هذا المقرر ، دور التكنولوجيا الحيوية فى تطوير الزراعة فى مصر .

ولقد راعت السياسة الزراعية المصرية دائما ، بعد المحافظـــة علـــى البيئـــة وصيانة الموارد الطبيعية ، واستدامة الإنتاج الزراعى محافظة على حقـــوق الأجيـــال القادمة ، كما أن مصر تسير بخطوات واثقة فى مشروعها الرائد ، وهو نشر الإعمـــار فى ٢٥% من مساحتها بدلا من أن نعيش فى مساحة لاتتجاوز ٥% من أرض مصـــر، وهذا الأمل الكبير الذى بدأنا فعلا فى خطواته التنفيذية ، سوف يتطلب تضافر جـــهود العلماء والزراعين ورجال الأعمال ، مع الجهود الضخمة التى تبذلها مصر فـــى هـــذا المجال .

(الموجـــــز)

هناك طريقتين للتقدم التكنولوجى هما استيراد التكنولوجيا من الدول المتقدمـة ، أو محاولة خلق تكنولوجيا محلية يتم نقلها من مراكز البحوث الى خطـــوط الإنتـــاج . ولاشك أن الاعتماد على الذات فى بناء التكنولوجيا الملائمة ، هو السبيل الصحيح لبناء قاعدة تكنولوجيا متقدمه ، خصوصا وأن نقـــل التكنولوجيـــا العالميـــة أصبـــح بـــاهظ التكاليـــــف .

ولقد قطعت مصر فى العقدين الاخيرين شوطا كبيرا فى التطـــور الصنـــاعى والتقنى ، وأصبح عندنا مدنا صناعية تصدر إنتاجها الى مختلف بلدان العالم . ويتطلب التقدم التكنولوجى بمصر حصرا كاملا ، لوحدات البحـــوث والتطويـــر فـــى مراكـــز الصناعة ومراكز البحوث والجامعات ، ووجود قاعدة من بيوت الخبرة المتخصصـــة ، ومتابعة التطورات العالمية فى الصناعة ومراكز الانتاج . وعلى مصر ، فـــى إطـــار التطوير الصناعى والتكنولوجى أن تزاوج بين استيراد تكنولوجيـــا عاليـــة متطـــورة وتطويعها ، وبين تطوير تكنولوجيات محلية ، وفى حالة استيراد تكنولوجيـــا متقدمـــة فلابد أن يتم ذلك من المشروعات المشتركة ، أو الحصول على تراخيـــص للتصنيـــع المحلى أو اتفاقيات المعونه الفنيه ، وذلك لتكون هذه التكنولوجيـــا المســـتورده دعمـــا للقطاع الإنتاجى بمصر . ويجب الحرص فى عقود ادخال التكنولوجيا الأجنبيه ، حيـث أن الجهات الموردة عادة ماتغالى فى مقابل الإمداد بخبراتها التكنولوجية .

ولقد سعى الإنسان المصرى منذ انتقال البشريه من حقبه الصيـــد الـــى حقبـــه الزراعة والاستقرار ، الى تطوير تقنيات تلائم معيشته ورفاهيته ، وقاوم طغيان النيـــل وفيضانه ، وأقام رى الحياض ثم اخترع الآلات اللازمه لرى الأراضى فى غير موسم الفيضان للتوسع فى الزراعة ، ثم تطور الى بناء القنـــاطر والســـدود وشـــق الـــترع والقنوات ، وكان مشروع السد العالى تحديا حضاريا بكل المقاييس ، وأستخدم فى بنائه وفى إنشاء محطات توليد الكهرباء أعلى تكنولوجيات متوفره ، لننتقل بعد ذلـــك الـــى العصر الذهبى للتقدم الزراعى والتوسع العمرانى ، من خلال محطة الرفـــع العملاقـــه ومشروع توشكى ، وإقامة العديد من المشروعات الزراعية والعمرانيه فـــى جنـــوب الوادى وسيناء وغيرها ، وتطوير نوعية الآلات الزراعية باستخدام أحدث التقنيات مثل الاستشعار عن بعد والتسويه بالليزر ، واستخدام التكنولوجيـــا الحيويـــة فـــى تطويـــر الزراعة ، ولازال التقدم التكنولوجى فى مجال الزراعة يعطى ثماره .

(أسئـلة)

١- تسعى مصر الى أن تصل الى مصاف الدول المتقدمه فى مجـال التكنولوجيـا ، ناقش كيف يمكن لنا الوصول لهذا الهدف ، بحيث تتكامل التقنيات المستوردة مـع التقنيات والخبرات المحلية .

٢- تضع الدول المتقدمة شروطا مجحفة أمام نقل التكنولوجيا للـدول الناميـه تكلفـها الكثير وتؤخر تقدمها ، ناقش ذلك .

٣- هناك مقوله بأن مصر هبة النيل فهل هى مقوله صحيحة ، ومـاهو دور الإنسـان المصرى فى صنع الحضارة ، والتقدم التكنولوجى فى مجال الزراعة .

﴿الباب الثاني﴾

استخدام التكنولوجيا في الزراعة

تعريف التكنولوجيا بأنها : القدرة على التوظيف الجيد للمعارف العلمية والفنية والمهارات والخبرات الفردية والجماعية والنظم الإدارية، وتطويع ذلك في نظام متكامل ومتناسق ، بهدف تطوير وابتكار وسائل وأساليب توفر الخدمات وتحسنها في شتى المجالات ، وصنع سلع مبتكرة أو تطوير سلع قائمة أو استحداث أنماط اقتصادية لزيادة الإنتاج .

وواضح من هذا التعريف العالمي ، أن نوعية وتطور التكنولوجيا يعتمد على ما تتوفر للمجتمع من معارف ومهارات وخبرات ، لهذا اختلفت التكنولوجيا المتاحة باختلاف ظروف المجتمع وتطوره ، وأن نوعية ومستوى التقنية في تغير مستمر وفي تطور مع تطور المجتمعات التي تنشأ فيها ، وإنها تعتبر دائما قوة أساسية دافعة للتقدم والنمو الاقتصادي والإنتاجي.

ولاشك أن استخدام التكنولوجيا قديم قدم الإنسان ، فقد استخدم الإنسان أساليب مختلفة ابتكرها لتسهيل حياته ، وكانت هذه التطورات في التكنولوجيا تختلف حسب مدى تقدم الفكر الإنساني ومدى تعقد احتياجاته.

ومنذ بدأ الإنسان في الانتقال من حياة الصيد إلى حياة الزراعة فكر في أساليب جديدة تساعده على الاستقرار وتصون مزروعاته. وكما نعلم جميعا ، فإن الإنسان المصري ربما كان أكثر الناس منذ قدم الأزل حاجة إلى وجود ابتكارات تساعده على استقرار الزراعة ، فالنيل يفيض في موسم الفيضان ثم تنحسر مياهه لمدة طويلة ، فكان لابد من أن تتوفر للإنسان المصري تقنيات للتحكم في مياه النيل بما يكفي لتشبيع التربة بالمياه وترسيب الغرين ، ثم التحكم في طريقة تصريف المياه الزائدة دون أن تسبب انجرافا للتربة. وبهذا بدأ الإنسان المصري يعرف تقنية بناء الجسور وضبط الفتحات بها ونشأ بناء على ذلك نظام ري الحياض. وبالطبع علينا أن نتصور أنه بعد فترة ، وجد الإنسان أن ما صنعه من تقنية لم يعد كافيا وبدأ يفكر في تطوير طرق التحكم في مياه النيل ، ومر خلال ذلك بمراحل مختلفة حتى استطاع مع مرور السنين، بناء القناطر والسدود وطرق توزيع المياه وتخزينها.

وبنفس الطريقة يمكن أن يتصور كيف طور الإنسان أدوات الزراعة ، من الفأس والمحراث وطرق رفع المياه من الشادوف إلى الساقية ، ثم مع تطور المعارف وصل الإنسان بتقنيته إلى أجهزه الزراعة الحديثة بمختلف أنواعها. كما أن الإنسان احتاجر إلى أساليب تكنولوجية لرعاية واستئناس الحيوان وتخزين المحاصيل ونقلها من مكان إلى لآخر والمحافظة عليها من الفساد.

مع استقرار الحياة وتحسين مستوى المعيشة والحاجة إلى الارتقاء بالتكنولوجيا من أجل رفع مستوى الإنتاج ، ظهرت الحاجة للبحوث الزراعية التي يمكن أن تترجم إلى إرشادات وأدوات يستخدمها المزارع، لتساعده في عمله وتقلل من الجهد العضلي وتزيد إنتاجه كما ونوعا. وبالطبع فإن مثل هذا النمو التكنولوجي استلزم نوعا من التنظيم والإدارة يقوم عليها مسئولين قادرين على تنظيم حياة المجتمع ، ومن هذا بدأ يظهر تدريجيا النظام الاجتماعي والحكومة. ولقد كان لاعتماد المصرين على مياه النيل والحاجة إلى تنظيمه وضبط فيضانه ، دورا كبيرا في تطور المجتمع المصري ، وقيام الحكومة وظهور الحضارة المصرية القديمة ، وما استتبعها من تطور تكنولوجي وتقدم وتنظيم متنامي .

لقد قصدنا من هذه العجالة القصيرة ، أن نوضح مدى قدم التكنولوجيا ومدى حاجة الإنسان إليها لتقدمه ورفاهيته. ولكن يلاحظ أن النصف الثاني من القرن العشرين ، شهد تطورا تكنولوجيا لا نبالغ إذا قلنا إنه يزيد مئات المرات عما حدث من تطور تكنولوجي على مدى عمر الإنسانية كلها. وهذا التطور التكنولوجي يرتبط مع اتساع وسائل الاتصال بين بلاد العالم ، بحيث يطلق على العالم في وقتنا الحالي إنه قرية كونية ، هذا الاتصال الكبير وسرعة انتقال المعرفة ، قد سهل انتقال التكنولوجيا بين بلدان العالم وساعد على تطورها بشكل مذهل. وتعتبر مصر من أكثر دول العالم انفتاحا على ما يحيط بها من تطورات وأحداث ، وكان المصريون من أسبق الدول في الأخذ بكل حديث متطور في عالم التكنولوجيا.

ولاشك أن الزراعة المصرية شهدت تطورات جذريه في الفترة الأخيرة انعكست على الإنتاج الزراعي. فقد تضاعف إنتاج الفدان من محاصيل الحبوب مثل القمح والذرة في العشر سنين الأخيرة ، وظهرت أصناف عالية الإنتاج ممتازة الجودة. كما حدث تطور كبير في إنتاج الخضر والفاكهة والإنتاج الحيواني والداجني ، وفي نفس الوقت فإن أساليب الزراعة تطورت تطورا شاملا ، فلم تعد الزراعة المصرية قائمة على العمل اليدوي واستخدام الحيوانات في الجر والحمل ، بل دخلت الطرق الحديثة في الري والصرف واستصلاح الأراضي ، واستخدمت تقنيات التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية في إنتاج أصناف محسنة وسلالات جديدة عالية الإنتاج ، والأمل معقود على أن نصل في سنين قليلة للاكتفاء الذاتي في محاصيل الحبوب ، وأن تكون كثير من المنتجات الزراعية المتطورة مصدرا أساسيا من مصادر العملة الأجنبية والدخل القومي من خلال التصدير للخارج.

لقد أدى التطور الضخم في المجالات المختلفة للعلوم البيولوجية في النصف الثاني للقرن العشرين ، وخصوصا في مجالات البيولوجيا الجزيئية ، وهندسة الجينات والبكتريولوجيا ، والفيروسات ، والإنزيمات، إلى انقلاب كبير في المعارف الإنسانية ، وإلى الوصول إلى تقنيات لا حدود لتقدمها ، ولا يتوقع الإنسان ما يمكن أن تصل إليه في المستقبل القريب.

ولا شك أن البيوتكنولوجيا ليست جديدة على الإنسان ، فقد استخدم العديد من التقنيات التي تعتبر جزءا ، من التقنية البيولوجية من زمن بعيد ، مثل طرق التكاثر الخضري – التخمرات الصناعية – التهجين – إنتاج الطفرات بالطرق الفيزيائية والكيمائية. ولكن في مدى العقود الأخيرة من هذا القرن دخل للتطبيق تقنيات حديثة لم تكن تخطر على الإنسان من قبل ، وأعطت هذه التقنيات إمكانات لا حدود لها في تطوير وتقدم بل وقيام صناعات جديدة لمنتجات جديدة لم يكن من الممكن القيام بها من قبل.

ولعل من المفيد أن نذكر أن نشأة الهندسة الوراثية وطرق التعامل مع الجينات ، قد احدث ثورة في العلوم البيولوجية أدت إلى إنتاج أصناف جديدة كان إنتاجها بالطرق التقليدية تحتاج إلى سنوات عديدة ، هذا إن كان من الممكن إنتاجها أصلا – بل أدى إلى تعديل جذري في التركيب الوراثي للكائنات ، مما لا يكون مبالغا فيه إذا قلنا إنه قد تم إنتاج كائنات متطورة تماما.كما أمكن إنتاج بعض المركبات ، الهامة التي تنتجها الخلايا الحيوانية والإنسانية داخل نباتات أو ميكروبات لا علاقة لها وراثيا بالكائنات الأصلية المنتجة لهذه المركبات ، والأمثلة كثيره في هذا المجال مثل إنتاج هرمون الإنسولين لعلاج مرض السكر داخل البكتريا بدلا من الخلايا المنتجة له في البنكرياس ، أو إنتاج هرمون النمو البشري في كائنات دقيقة ، أو إنتاج الانترفيرونات (مضادات الفيروسات المرضية)... الخ.

لقد أصبح إنتاج نباتات معدلة وراثيا أو حيوانات معدلة وراثيا تقنية بسيطة ، تتم في عديد من المعامل بل وفي شركات متخصصة على مستوى العالم ، بحيث تكون هذه الكائنات المعدلة مقاومة لظروف معينة أو منتجة لمركبات محددة أو أكثر نموا واغرز إنتاجا من الآباء التي تم تعديلها وراثيا.

كما أن التطوير الكبير في مجال زراعة الأنسجة النباتية والحيوانية، من خلال معرفة العوامل المؤثرة على نمو وتكاثر الخلايا ، وإنتاج كائنات كاملة من خلال خلايا مزروعة في العمل ، واستخدام بيئات صناعية لتنمية وإكثار هذه الكائنات ، هذا التطور قد فتح المجال وأسعا لإنتاج نباتات متماثلة من أصناف ممتازة خالية من الأمراض ، وأعداد ضخمة من الشتلات وبتكلفة محدودة للغاية ، كما أن زراعة الأنسجة ساعدت كثيرا في مجال دراسة الأمراض والأورام التي تحدث في الخلايا الحيوانية.

والتقدم الضخم في مجال البيوتكنولوجيا لا يمكن أن يعزي فقط للتقدم في مجال العلوم البيولوجية ، ولكن للتطوير والتزاوج بين عدد من ، العلوم منها: الفيزياء ، الإلكترونيات ، الكيمياء ، البيولوجيا الجزئية ، والفيزياء البيولوجية.

ويجب أن نلاحظ أن أكثر نواحي التقدم في التكنولوجيا الحيوية ، قد نشأ من خلال التعامل مع الكائنات الحية الدقيقة وخصوصا البكتريا ، ويرجع ذلك إلى قدرة هذه الكائنات على التطور والعيش في بيئات مختلفة، مع سرعة التأقلم مع الوسط الذي تعيش فيه ، وسهولة التنمية في مزارع نقية وبأعداد كبيرة في حيز محدد ، كما إنه من

السهل التعامل مع جهازها الوراثي من DNA ، مقارنه مع الكائنات الأخـــرى الأكــثر رقيا ، وقد

جعل ذلك من الممكن إزالة بعض جينات من جهازها الوراثي وإضافة جينات أخرى لم تكن موجودة أصلا داخل خلاياها ، مما يعطي إمكانات لا حدود لـــها فـــي اســـتخدام الكائنات الدقيقة لإنتاج مركبات ذات قيمة اقتصادية كبيرة سواء في مجال التغذية أو في مجال العلاج أوغيرها من المجالات ، والمواد المنتجة يمكن التحكم في إنتاجها بكميات ضخمة وبتكلفة ضئيلة ، علاوة على أن إنتاج مثل هذه المنتجات لم يكن ممكنا أو باهظ التكلفة ، فيما لو استخدمت الطرق التقليدية للإنتاج.

ولقد أمكن من خلال التقنية الحيوية إنتاج مواد لا حصـــــر لـــها ، ففـــي مجـــال التخمرات الصناعية يمكننا إنتاج الفيتامينات والإنزيمـــــات للاســـتخدامات الصناعيـــة والعلاجية ، وإنتاج الأحماض العضوية والمذيبات والمركبات الصيدلانية.

ومن المجالات التي استخدمت فيها التقنية الحيوية كثيرا في الســـــنين الأخـــيرة ، مجال استخدام الميكروبات المهندسة وراثيا (المعدلة) في تصنيع لقاحات ضد عديد مـن الأمراض ، وتتميز هذه اللقاحات بالأمان التام عند استخدامها للوقاية من الأمــــراض. كما أمكن من خلال الميكروبات المهندسة وراثيا إنتاج مضادات حيوية جديدة أو زيـادة إنتاج المضادات الحيوية الموجودة. وذلك علاوة على ما سبق أن ذكرنا ، في مجـــال إنتاج الهرمونات مثل الأنسولين لعلاج السكر ، وهرمون النمو لعلاج نقـــص النمـــو، ومضادات التجلط وغيرها ، وبعض هذه المركبات كان من المستحيل الحصول عليـــها بأسعار في متناول المرضى حتى القادرين منهم.

ومن المجالات التي يمكن أن تلعب التكنولوجيا الحيوية دورا هاما فيـــها، إنتـــاج الغذاء وخصوصا البروتين الذي يعاني أكثر من نصف سكان العالم نقصا فيه. ويعتـــبر البروتين الميكروبي أحد الحلول الهامة لمشكلة نقص البروتين فـــي تغذيـــة الإنســـان والحيوان ، والمواد الخام اللازمة لإنتاج البروتين الميكروبي متوفرة في أغلب بلـــدان العالم النامي ، التي تعاني أكثر من غيرها من مشكلة نقص البروتين ، وتتراوح المـواد الخام التي يمكن أن تستخدمها الميكروبات لإنتاج البروتين الميكروبي فيما بين مخلفات المزارع ومصانع الأغذية ومخلفات استخراج وتكرير البترول.

﴿الموجز﴾

يتضح مما سبق أن التكنولوجيا وتطورها عملية قديمة قدم حاجة الإنسان إلى تطور حياته ، وأن التطور التكنولوجي قد مر بمراحل كثيرة وصولا إلى ما نشاهده حاليا من تقدم مذهل ، في التقنيات المستخدمة في مختلف نواحي الحياة عموما وفي مجال الزراعة خاصة.

ولقد كانت مصر من أقدم الدول في الحاجة إلى التطور التكنولوجي ، نظرا لحاجتها إلى التحكم في مياه النيل والعمل على استقرار الزراعة. وقد أدى هذا إلى قيام حضارة متميزة على ضفاف النيل وحكومة مستقره آمنة.

أن التطور التكنولوجي الذي حدث في النصف الثاني للقرن العشرين ، كان تقدما مذهلا وشاملا. كما شهدت مصر نهضة زراعة كبيره في العشرين سنه الأخيرة في الإنتاج الزراعي والحيواني وفي استصلاح الأراضي وفي أساليب الزراعة.

أما من حيث التكنولوجيا الحيوية ، فإن التطور العالمي فيه يفوق التصور ، فلقد أحدثت الطرق الحديثة للتحكم في الجينات ونقلها إلى تطورات من الصعب معرفة مداها ، وأمكن إنتاج منتجات كان من الصعب بل من المستحيل إنتاجها بالطرق التقليدية ، كما أصبح تطوير السلالات النباتية والحيوانية سهلا وسريعا ، كما أن التطور في زراعة الأنسجة أحدث ثورة في تحسين الإنتاج النباتي. والأمل كبير في أن التكنولوجيا الحيوية يمكنها أن تساعد في حل مشكلة نقص وسوء التغذية على مستوى العالم ، وإلى إنتاج الطعام الذي يكفي الأعداد المتزايدة من السكان في العالم.

﴿الباب الثالث﴾

نقل التكنولوجيا والتنمية الزراعية في مصر

يعتبر قطاع الزراعة أحد القطاعات الرائدة في الاقتصاد القومي المصري ، حيث يساهم بحوالي ٢٠% من الناتج القومي الإجمالي ، وحوالي ٣٤% من إجمالي القوي العاملة ، كما أن حصيلة الصادرات الزراعية الخام والمصنعة تزيد عن حوالي ثلث حصيلة الصادرات المصرية. ويعد القطاع الزراعي مصدر الغذاء والكساء لاحتياجات الشعب المصري والذي يتزايد بمعدلات سكانية مرتفعة ، مما يضع أعباء مستمرة على هذا القطاع لإشباع الحاجات السكانية المتزايدة من جانب ، وزيادة الصادرات الزراعية من جانب آخر.

انتهج قطاع الزراعة عددا من السياسات في إطار برامج الإصلاح الاقتصادي خلال فترة ما بعد الثمانينات ، كان لها دورا كبيرا في زيادة معدلات الإنتاجية الغذائية ودفع عملية التنمية الزراعية الأفقية ، من خلال تنفيذ استراتيجية التنمية الزراعية، واستجابة المزراعيين لنتائج البحوث والتكنولوجيا الزراعية الحديثة والإرشاد الزراعي، حيث تحققت إنجازات ملموسة في التنمية الزراعية ، بالإضافة إلى تحقيق الأمن الغذائي في مصر.

تعد البحوث الزراعية أحد الركائز الأساسية لتحقيق أهداف إستراتيجية الزراعة، حيث أن تحقيق أهداف هذه الاستراتيجية لأبد وأن يواكبه سياسية تكنولوجية زراعية على المستوى القومي ، قادرة على تلبية احتياجات برامج التنمية الزراعية من خلال خطة بحوث تطبيقية تكنولوجية زراعية على المستوى القومي ، مع مواكبة المتغيرات المحلية والعالمية. وفي ضؤ ذلك يتولد تيار مستمر من نتائج البحوث التطبيقية اللازمة لتحقيق أهداف خطة التنمية ، بالإضافة إلى تقوية القدرات العلمية اللازمة لهذه الخطة ، وذلك بالاهتمام بالبرامج التدريبية المختلفة للباحثين وجميع العاملين في هذا المجال ، وكذلك العمل على نقل التكنولوجيا ونشرها على أوسع نطاق ممكن بين المزارعين ، عن طريق أجهزة الإرشاد الزراعي ، بعد خضوع هذه التكنولوجيات للتقييم الاقتصادي ، ومتابعة الآثار الاقتصادية والاجتماعية الناشئة عن تطبيق هذه التكنولوجيا ، وإيجاد الحلول العلمية لأي مشاكل في التطبيق.

بدأت علاقة المزارع المصري بالتكنولوجيا عندما فكر لأول مرة في الأسلوب المناسب لاستبقاء مياه الفيضان فوق أراضي الوادي حتى ترسب حمولتها من الطمي ، حيث أقام الجسور حول الأرض باستخدام آلة (الفأس) لبناء هذه الجسور ، ثم تطور الفأس بمرور الوقت إلى المحراث ، وذلك بتغيير وضع السلاح إلى المستوى الأفقي بدلا من المستوى الرأسي . وقد ظل الفأس والمحراث آلات أساسية في الزراعة

المصرية حتى اليوم ، كما أخترع الفلاح المصري الشادوف عند رغبته في زراعة أراضي مرتفعة لا تغمرها مياه الفيضان. وهكذا نشأ العلم والتكنولوجيا على ضفاف النيل من ثمار عبقرية المصري القديم.

وقد أثرت التكنولوجيا بدرجة واضحة في تحسين حياة المزارع ، فقد زرع المصريون عددا كبيرا من محاصيل الحقل ، مثل القمح والشعير ، واستأنسوا الأبقار والأغنام من الحيوانات ، وأقاموا الحياض وحرثوا التربة وزرعوها بصفوف متنوعة من النباتات. وما زال المزارع المصري يسعى لوضع العلم الحديث ومنجزاته في خدمة التنمية الشاملة للبلاد ، حيث قدم علماء الزراعة في مصر الكثير وما زال في جعبتهم الأكثر.

صور نقل التكنولوجيا

هناك وجهان لنقل التكنولوجيا:

أ- إستحداث تكنولوجيا جديدة ، من خلال ترجمة نتائج البحوث التي تجرى في الوطن إلى وسائل متقدمة للإنتاج وطرق متطورة للخدمات (نقل رأسي).

ب- جلب وتطويع تكنولوجيا أجنبية ، بما يعني جلب التكنولوجيا من خارج الوطن (نقل أفقي) .

وفي المجال الزراعي ، تعتبر ترجمة نتائج البحوث الزراعية إلى إرشادات وأدوات ، تصل إلى المزارع في حقله وتزيد من إنتاجه ، بمثابة نقل رأسي للتكنولوجيا. وقد يتطلب الأمر في أغلب الأحيان مرحلة وسطية في حقول التجارب ، قبل نقلها إلى الفلاح بوسائل الإرشاد الزراعي. ويتطلب النقل الرأسي للتكنولوجيا بنية أساسية ، تتمثل في توفر أجهزة بحث علمي زراعي قادرة على الإبتكار ، وقاعدة تكنولوجية راسخة قادرة على استيعاب المبتكرات ، مع القدرة على الربط بينهما ، في إطار يحول الإنجاز العلمي إلى شكل قابل للتداول بين أفراد المجتمع.

وفي مجال النقل الأفقي للتكنولوجيا ، فإنها تنقل على صورة وسائل للإنتاج على هيئة حقوق براءات أو حقوق تنفيذ ، يجرى بشأنها التعاقد وفق التشريعات الدولية ، أو الاتفاقيات الثنائية. ويصاحب نقل التكنولوجيا أفقيا تطويع فني وتطويع اجتماعي. ويعني بالتطويع الفني ، المواءمة بين التكنولوجيا المستوردة والأحوال المحلية ، وهذا يحتاج إلى قدر من الدراسات العلمية والتكنولوجية ، أما التطويع الاجتماعي ، فهو مواءمة بين التكنولوجيا والأحوال الاجتماعية المحلية مثل العمالة والقبول الاجتماعي في ظل المعتقدات والأعراف ، وهذا يحتاج إلى دراسات متكاملة من العلوم الطبيعية والاجتماعية والاقتصادية.

وعموما يبدأ نقل التكنولوجيا رأسيا ، ومن خلاله يتم التعـــرف علـــى المشـــكلات واكتساب الخبرة ، والقدرة على الحركة في النقل الأفقي للتكنولوجيا. ومن الجدير بالذكر ألا يكون الاختيار الدائم هو التكنولوجيا المتوسطة ، بل التكنولوجيـــا المواءمـــة للبيئـــة المصرية ، أو المقابلة للتطويع وفق متطلبات وإمكانيات الزراعة المصرية.

مراكز نقل التكنولوجيا

تشكل السياسة التكنولوجية في القطاع الزراعي ، مـــن خـــلال الطاقـــات العلميـــة الزراعية الضخمة في وزارة الزراعة ومراكزها البحثية ، وكليات الزراعة بالجامعـــات المصرية وغيرها من مراكز ومعاهد البحوث ، التي يتكون منها نظام البحـــث العلمـــي الزراعي في مصر ، حيث تقوم هذه المراكز والمعاهد بجهود إرشادية متنوعة، تستهدف نقل التكنولوجيا الزراعية المحسنة ونشرها بين الزراع . ويقع على عاتق الأعداد الكبيرة من الباحثين في كافة تخصصات الزراعة القيام بمهام رئيسية من حيث :

- إجراء مجموعة متكاملة من البحوث العلمية الزراعية ، يتولد عنها نتـــائج تطبيقيـــة قابلة لتشغيل عناصر تكنولوجية زراعية ، تحقق الإرتقاء بمستوى الإنتاج.
- نقل وتعميم التكنولوجيا بين جماهير المستفيدين ، بعد إقناعهم بجدواها تحت ظروف الزراعة المصرية.

ومن الأمور الجديرة بالذكر ، أنه لا يمكن تحقيق هذه الأهداف إلا في وجـــود جهاز قوي للإرشاد الزراعي ، يصل الجسور بين مولدي التكنولوجيا ومستخدميها.

يتم البحث العلمي الزراعي في عدد كبير من المؤسسات العلمية ، تهدف إلـــى زيادة الإنتاج الزراعي ، وذلك بفضل تحويل نتائج البحـــوث التطبيقيـــة إلـــى طـــرق وأساليب تكنولوجية ، قابلة للتطبيق على المستوى الحقلي في مساحات شاسعة.

ويمكن عرض التنظيمات التنفيذية البحثية ، ونقل وتطويـــع التكنولوجيـــا فـــي القطاع الزراعي في مصر ، فيما يلي

أ- الجامعات

١-**كليات الزراعة** في الجامعات المصرية ، وعددها ١٧ كلية موزعة بيـــن ١٢ جامعة ، ويتبع كل منها مزرعة تجريبية تتفاوت مساحتها مـــن ٢٥ - ١٢٠٠ فدان.

٢- **كليات الطب البيطري** وعددها ٨ كليات.

ب- وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي

١- **مركز البحوث الزراعية** ، وهو الجهاز البحثي المتخصص لوزارة الزراعة، ويضم ١٤ معهدا متخصصا بالإضافة إلى ٤ معامل مركزية ، وتخدمه ٣٠ محطة للتجارب والبحوث الحقلية موزعة جغرافيا في أنحاء الجمهورية ، منها ١٢ محطة للمحاصيل الحقلية ومثلها للإنتاج الحيواني وستة محطات للحاصلات البستانية.

٢- **مركز بحوث الصحراء** ، ويتبع حاليا وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي، ويباشر نشاطه منذ عام ١٩٥٤ في دراسات وبحوث الموارد الزراعية ، واستخدامها في المناطق الصحراوية خارج المساحات المنزرعة في الدلتا والوادي.

٣- **الجهاز التنفيذي لمشروعات تحسين الأراضي** ، ويتبع وزارة الزراعة واستصلاح الأراضي ، وبدأ نشاطه في عام ١٩٧١ ، وتتركز أهداف هذا الجهاز في تحسين وصيانة الأراضي الزراعية على المستوى القومي، ورفع إنتاجية الأراضي الزراعية وحمايتها من التدهور.

جـ- وزارة الدولة للبحث العلمي

١-**المركز القومي للبحوث** ، ويضم عدة شعب منها شعبتان تختصان تماما بالعلوم الزراعية ، وهما شعبة البحوث الزراعية والبيولوجية ، وشعبة بحوث الصناعات الغذائية والألبان ، كما يضم شعبتين تشملان أنشطة زراعية ، وهما شعبة بحوث العلوم الأساسية (الوراثة والسيتولوجي) وشعبة بحوث الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية.

٢- **معهد علوم البحار والمصايد** ، ويرجع تاريخ إنشاء المعهد إلى عام ١٩٣١، وضم عام ١٩٦٢ إلى وزارة البحث العلمي عند إنشائها ، ومن ضمن مهام واختصاصات هذا المعهد ، إعداد الدراسات اللازمة لتنمية الثروة السمكية ودراسة المخزون السمكي ، وكذلك تدريب العاملين في هذه النواحي ، على أحدث الأساليب العلمية والتكنولوجية في هذا المجال.

د- وزارة الأشغال العامة والموارد المائية

- **مركز البحوث المائية** ، وقد أنشأ في عام ١٩٧٥، ويهدف إلى إعداد وتنفيذ سياسات طويلة الأمد لإدارة الموارد المائية في مصر ، تفي بالمتطلبات القومية من المياه في كافة الاستخدامات. ويتألف هذا المركز من ١١ معهدا ، بعض هذه المعاهد يرتبط نشاطها ارتباطا مباشرا ووثيقا بالبحوث الزراعية وهي:

- معهد بحوث توزيع المياه وطرق الري.
- معهد بحوث الصرف.
- معهد بحوث مقاومة الحشائش وصيانة المجاري المائية.

هـ- وزارة الكهرباء والطاقة

١-المركز القومي لبحوث وتكنولوجيا الإشعاع – هيئة الطاقة الذرية
يقوم المركز بإجراء البحوث العلمية والتطبيقية لخدمة برامج التنمية العامة في قطاعات الدولة المختلفة. ويهتم المركز في قطاع الزراعة ، بمجالات حفظ الأغذية ومقاومة الآفات الحشرية في الزراعات والحبوب المخزونة بالإشعاع ، وتحسين صفات الحاصلات الزراعية.

٢- مركز البحوث النووية - هيئة الطاقة الذرية
يتركز اهتمامات المركز في البحوث والدراسات ، وتدريب الكوادر العلمية والزراعية ، لخدمة التطبيق العلمي للزراعة الحديثة ، مع عقد دورات تدريبية لاستخدامات الطاقة الذرية في البحوث الزراعية.
ويضم مركز البحوث النووية عدة أقسام منها الأراضي والمياه ، وقسم البيولوجي (حشرات - إنتاج حيواني) ، وقسم بحوث النبات (إنتاج طفرات وتربية نبات).

و- الهيئة القومية للاستشعار من البعد وعلوم الفضاء
تعتمد الهيئة على استخدام التكنولوجيا الحديثة للاستشعار من البعد (الأقمار الصناعية أو طائرات الاستطلاع المجهزة بالأجهزة الحديثة للاستشعار من البعد) ، في أعداد الخرائط وتحديد ومسح مصادر الثروة الطبيعية ، لإمكان استغلالها في مشروعات التوسع الزراعي والعمراني لخدمة الاقتصاد القومي.

نقل التكنولوجيا والإرشاد الزراعي
يسعى الإرشاد الزراعي إلى نشر التكنولوجيا والتقنيات الحديثة في المجال الزراعي ، حيث يعتمد تحقيق التنمية الزراعية في مصر على الربط الجيد بين البحوث الزراعية والإرشاد الزراعي والزراع . لذلك فإن تحديد معوقات الإنتاج الزراعي ، وقيام الجهات البحثية بإيجاد الحلول لها ، وإجراء التجارب للتأكد من سلامة النتائج تطبيقيا واقتصاديا ، وتقبل الزراع لها تحت ظروفهم الخاصة حتى يمكن نشرها بينهم ومساعدتهم على تبنيها ، وذلك من خلال التخطيط والتنفيذ الجيد لبرامج العمل الإرشادية.

يعتمد نجاح السياسية التكنولوجية والارتقاء التكنولوجي في القطاع الزراعي، على وجود جهاز قوي للإرشاد الزراعي ، يصل الجسور بين مصدر التكنولوجيا والمستفيد منها . وقد تم إنشاء مكون لنقل التكنولوجيا في عام ١٩٨٨ ، كأحد المكونات الرئيسية المشروع القومي للأبحاث الزراعية (نارب N ARP) ، إيمانا من المشروع بضرورة امتداد نشاطاته البحثية لتشمل الإرشاد الزراعي ، لتحقيق الربط الفعال بين الباحثين والزراع ، ونقل التكنولوجيا الحديثة إليهم وتحفيزهم على تبنيها.

هذا ويهدف مكون نقل التكنولوجيا إلى تحقيق الأهداف التالية:

١- تدعيم قدرات الإدارة والتخطيط على المستوى المركزي.
٢- تدعيم قدرات نقل التكنولوجيا لنظام البحث والإرشاد الزراعي.
٣- تدعيم إدارة وتخطيط الأجهزة الإرشادية لامركزيا.
٤- تشجيع أجهزة الإرشاد الزراعي الأخرى على المشاركة في نقل التكنولوجيا.
٥- تنمية الموارد البشرية.

إنجازات نقل وتطويع التكنولوجيا في قطاع الزراعة واستصلاح الأراضي

أمكن تحقيق إنجازات عملاقة نحو زيادة الإنتاج الزراعي خلال العقود القليلة الماضية ، بفضل تحويل نتائج البحوث التطبيقية إلى طرق وأساليب تكنولوجية، طبقت على المستوى الحقلي ، مما أدى إلى زيادة إنتاج وحدة المساحة من محاصيل القمح والأرز والذرة والخضر والفاكهة من خلال تطبيق حزمة من التقنية المتكاملة ، تحقق الاستفادة من منجزات البحوث لزيادة الإنتاج القومي. وكل هذه الإنجازات، تعتبر بمثابة كم هائل من تكنولوجيا زراعية تلائم البيئة المصرية ، أمكن توليدها على أيدي علماء مصر ، وهو الأمر الذي يتطلب توفير جهاز قوي للإرشاد الزراعي، قادر على نشر التكنولوجيا في جميع ربوع مصر ، لتحقيق إنجازات ملموسة في التنمية الزراعية ، وتحقيق الأمن الغذائي.

وفيما يلي إيجاز لبعض هذه المنجزات

- زيادة مساحة الأراضي الزراعية إلى حوالي ٧٫٨ مليون فدان عام ١٩٩٧.
- زيادة المساحة المحصولية من ١١٫٢ مليون فدان عام ١٩٨٢ ، إلى ١٤٫٥ مليون فدان عام ١٩٩٧ نتيجة زيادة التكثيف الزراعي.
- زيادة قيمة الإنتاج الزراعي من ٥٫٨ مليار جنية عام ١٩٨٢ ، إلى نحو ٥٦٫٤ مليار جنية عام ١٩٩٦، وزيادة الدخل الزراعي من ٤٫١ مليار جنية عام ١٩٨٢ ، إلى نحو ٤٢٫٣ مليار جنية عام ١٩٩٦.
- زيادة قيمة الإنتاج النباتي من ٣٫٥ مليار جنية عام ١٩٨٢ ، إلى نحو ٤٠ مليار جنية عام ١٩٩٦ .

- زيادة قيمة الإنتاج الحيواني والسمكي من ٢,٣ مليار جنية عام ١٩٨٢ ، إلى نحو ١٦,٤ مليار جنية عام ١٩٩٦.
- زيادة قيمة الصادرات الزراعية من ٤٧١ مليون جنية عام ١٩٨٢ إلى حوالي ٢ مليار جنية عام ١٩٩٧ .
- زيادة حجم إنتاج الحبوب إلى نحو ١٧,٥ مليون طن عام ١٩٩٧ مقارنا بنحو ٨ مليون طن عام ١٩٨٢ .

  فقد زاد إنتاج القمح إلى ٦ مليون طن عام ١٩٩٧ مقارنا بنحو ٢ مليون طن عام ١٩٨٢ ، وإنتاج الذرة الشامية من ٣,٣ مليون طن عام ١٩٨٢ إلى نحو ٥,٨ مليون طن عام ١٩٩٧ .

  كما تضاعف إنتاج الأرز ليصل إلى نحو ٥,٥ مليون طن عام ١٩٩٧، مقارنا بنحو ٢,٤ مليون طن عام ١٩٨٢ .
- وصول مصر إلى المركز الأول على مستوى العالم بالنسبة لمتوسط إنتاج الفدان من محصول الأرز (٣,٥ طن للفدان) وقصب السكر (٤٧ طن للفدان).
- زيادة حجم إنتاج الخضر إلى نحو ١٤,٥ مليون طن عام ١٩٩٧ مقارنا بنحو ٨ مليون طن عام ١٩٨٢ .

  وتطور إنتاج الفاكهة إلى نحو ٦,٦ مليون طن عام ١٩٩٧، مقارنا بنحو ٢,٦ مليون طن عام ١٩٨٢ .
- في مجال الاكتفاء الذاتي ، فقد اكتفت مصر ذاتيا من الأرز والخضر والفاكهة والألبان واللحوم البيضاء والبيض والأسماك ، علاوة على تحقيق الحاصلات فائضا تصديريا (فمثلا بلغت صادرات البطاطس عام ١٩٩٦ حوالي ٤١١ ألف طن تمثل ثلاثة أضعاف مثيلتها في العام السابق ، وبلغت صادرات البرتقال نحو ٢٠٠ ألف طن).

  كما تحسنت نسبة الاكتفاء الذاتي من القمح لتبلغ نحو ٥٥ % عام ١٩٩٧، ومن المتوقع أن تصل نسبة الاكتفاء الذاتي من القمح إلى ٧٥ % عام ٢٠٠٠
- زيادة إنتاج السكر من ٦٤٩ ألف طن عام ١٩٨٢ إلى ١,١ مليون طن عام ١٩٩٧، وارتفاع نسبة الاكتفاء الذاتي إلى نحو ٧٢ % ، وانخفاض الواردات من السكر حاليا ، إلى ٤٥٠ ألف طن سنويا عام ١٩٩٧ .

المحاور المستقبلية لإستراتيجية التنمية الزراعية من خلال نقل وتطويع التكنولوجيا

تعتمد استراتيجية البحوث الزراعية ، على استحداث وأقلمة التكنولوجيا التي تؤدي إلى زيادة إنتاجية المحاصيل الزراعية والإنتاج الحيواني كما ونوعا ، مع المحافظة على البيئة والاستغلال الأمثل للموارد الاقتصادية الزراعية ، للحصول على أقصى إنتاج من الوحدة المتاحة من موردي الأراضي والمياه ، وذلك عن طريق

البحث والتكنولوجيا والإرشاد والتدريب في جميع فروع الإنتاج الزراعي.
وفي ضوء ما سبق ، فإن التوصل إلى تكنولوجيا جديدة ، من خلال المشروعات البحثية التطبيقية ، القابلة للتطبيق تحت الظروف المصرية ، سوف تساعد على إضافة محاور مستقبلية لاستراتيجية التنمية الزراعية ، منها على سبيل المثال :

- تطوير برامج الإرشاد الزراعي وربط البحوث بالإرشاد ، ونقل التكنولوجيا إلي الأراضي القديمة والجديدة على السواء ، مع الاهتمام بتدريب الكوادر البحثية والإرشادية اللازمة للعمل في تلك المناطق ، في ضوء ما تسفر عنه نتائج الدراسات في كل منطقة.
- الاستمرار في زيادة الإنتاج الزراعي رأسياً وأفقياً ، والاستخدام الأمثل للموارد الزراعية المتاحة وخاصة الأراضي والمياه ، والعمل على صيانة هذه الموارد والحفاظ عليها وحمايتها وتنميتها وتحقيق الكفاءة في استخدامها ، مع الحفاظ على البيئة ، وصولاً إلى التنمية الزراعية المتواصلة.
- دعم مشروعات تحسين وصيانة الأراضي الزراعية ، والتي تشمل إضافة الجبس الزراعي والحرث تحت التربة والتسوية بالليزر ومشروعات الصرف المغطى.
- التوسع في استخدام التسوية بالليزر في الأراضي المنزرعة بالقصب، واستخدام الري السطحي المرشد الذي يؤدى إلى زيادة الإنتاج ، وفي نفس الوقت توفر الاحتياجات المائية من ١١٠٠٠ متر مكعب للفدان إلى ٨٠٠٠ متر مكعب للفدان ، وبالتالي يمكن توفير مليار متر مكعب مياه سنوياً ، حيث تبلغ المساحة المزروعة بالقصب حوالي ٣٠٠ ألف فدان.
وكذلك التوسع في تحويل الري السطحي بحدائق الفاكهة بالدلتا ، إلى ري بالتنقيط بما يحسن الإنتاج ، ويوفر المياه في نفس الوقت .
- الإستمرار في تقليل استخدام الأسمدة والمبيدات الكيماوية ، والاعتماد على برامج المكافحة البيولوجية المتكاملة ، بما يقلل تكاليف الإنتاج ويحسن الجودة ويزيد القدرة على المنافسة العالمية ، في ظل سياسات منظمة التجارة العالمية (WTO) واتفاقيات المشاركة المصرية الأوربية والأمريكية من جهة ، يحافظ على صحة الإنسان والأعداء الطبيعية ، ويحمي البيئة من التلوث من جهة أخرى.
- العمل على دعم بحوث الهندسة الوراثية والبيوتكنولوجي (التكنولوجيا الحيوية)، لإنتاج أصناف وسلالات محاصيل قصيرة العمر (مبكرة النضج)، عالية الإنتاجية والجودة ، وذات احتياجات مائية أقل ، وتتحمل الحرارة والجفاف والملوحة ومقاومة للأمراض والآفات ... مثل القمح والأرز الذرة الشامية.

ومن المتوقع ، التوسع في زراعة أصناف الأرز الجديدة عالية الإنتاجية (٤٫٥ – ٥ طن للفدان) ، قصيرة العمر (١١٥ يوماً بدلاً من ١٦٠ يومـــاً) ، وذات احتياجات مائية أقل (٦٠٠٠ متر مكعب للفدان بدلاً من ٩٠٠٠ مـــتر مكعـــب للفدان) ، الأمر الذي سيؤدي إلى الحصول على نفس مستوى الإنتاج (حوالـــي ٥ مليون طن) من مساحة مليون فدان ، بدلاً من ١٫٥ مليون فدان ، إلى جانب توفير حوالي ٣ مليار متر مكعب مياه سنوياً.

- إعطاء المزيد من الجهود لأجهزة البحث العلمي الزراعـــي ، لتوليـــد فيـــض مستمر من نتائج البحوث التطبيقية في الأراضي القديمة والجديدة ، التي يمكـن ترجمتها إلى تكنولوجيات حديثة قابلة لتطبيق ، لزيـــادة إنتاجيـــة المحـــاصيل الزراعية والإنتاج الحيواني.

(الموجز)

يعتبر القطاع الزراعي قطاع رائد في الاقتصاد القومي المصري، حيث يسـاهم بحوالي ٢٠ % من الناتج القومي ، وبحوالي ٣٤ % من إجمالي القوى العاملة.

ويعتمد تحقيق الأهداف الاستراتيجية التي نتطلبها من الزراعة ، على وضـــع سياسة تكنولوجية زراعية على المستوى القومي ، وذلك بالاهتمـــام بـــالبحث العلمـــي اللازم لتحقيق أهداف التنمية ، والاهتمام بالبرامج التدريبية المختلفة لجميع العاملين في المجال الزراعي ، مع العمل على نقل التكنولوجيا ونشرها على أوسع نطاق ممكن بين المزارعين ، عن طريق أجهزة مؤثرة وفعالة للإرشاد الزراعي.

وهناك وجهان لنقل التكنولوجيا ، عن طريـــق النقـــل الرأســـي ، باســـتخدام تكنولوجيا جديدة ، من خلال ترجمة ما يتم من بحوث إلى وســـائل متقدمـــة للإنتـــاج وطرق متطوره للخدمات ، وعن طريق النقل الأفقي من خلال نقل تكنولوجيا أجنبيـــة، على أن يصاحب ذلك النقل التطويع الفني والاجتماعي اللازميـــن ، والملاءمـــة بيـــن التكنولوجيا المستوردة والظروف المحلية.

وتشكل السياسة التكنولوجية في القطاع الزراعي ، من خلال الطاقات العلميـــة الموجودة في وزارة الزراعة ومراكزها البحثيـــة ، وكليـــات الزراعـــة بالجامعـــات المصرية، وغيرها من مراكز ومعاهد البحوث ونقل التكنولوجيا. وتقوم هذه المراكـــز والمعاهد بإجراء البحوث العلمية الزراعية ، لتحقيق الارتقاء بمستوى الإنتـــاج ، كمـــا تقوم بنقل وتعميم التكنولوجيا المحسنة ، ونشرها بين جماهير المستفيدين ، وذلك فـــي وجود جهاز قوي للإرشاد الزراعي ، يصـــل الجســـور بيـــن مولـــدي التكنولوجيـــا ومستخدميها.

وبفضل تحويل نتائج البحوث التطبيقية إلى طرق وأساليب تكنولوجية ، فقـــد تم خلال العقود القليلة الماضية ، تحقيق إنجازات عملاقـــة خاصـــة بزيـــادة الإنتـــاج الزراعي، وتحقيق الأمن الغذائي مع الاستغلال الأمثل للموارد الاقتصادية الزراعيـــة ، والمحافظة على الجوانب البيئية.

﴿أسئلة﴾

١- تكلم عن أهمية قطاع الزراعة في الإقتصاد القومي المصري ؟

٢- اشرح العبارة التالية : نشأ العلم والتكنولوجيا على ضفاف النيـــل مـــن ثمار عبقرية المصري القديم .

٣- ما هي صور نقل التكنولوجيا ودور كل منها في التنمية الزراعية ؟

٤- تكلم عن مراكز نقل وتطويع التكنولوجيا في القطاع الزراعي في مصر ودور كل منها ؟

٥- إشرح أهمية الإرشاد الزراعي في نقل التكنولوجيا ؟

٦- تكلم عن كيفية الاستفادة من نتائج البحوث التطبيقية في قطاع الزراعــة واستصلاح الأراضي ؟

٧- أذكر أهم إنجازات نقل وتطويع التكنولوجيا في القطاع الزراعي ؟

٨- التوصل إلى تكنولوجيا جديدة من خلال المشروعات البحثية التطبيقيــة، سوف يساعد على إضافـــة محـــاور مســـتقبلية لإســـتراتيجية التنميـــة الزراعية، إشرح ذلك ؟

٩- ما أهمية دعم بحوث الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية في مجـــال الزراعة ، مع ذكر أمثلة لذلك ؟

(الباب الرابع)

التطبيقات التكنولوجية الحديثة فى مجال الزراعة

تكنولوجيا زراعة الأنسجة Tissue culture technology

تعتبر تكنولوجيا زراعة الأنسجة إحدى التقنيات الهامه فى مجال الزراعة والطب . وفى مجال الزراعة ، فان المزارع النسيجية تعتبر من الوسائل الجيده لإكثار الأصناف النباتية عالية الجودة ، والحصول على شتلات متميزه خالية من الأمراض تشابه تماما النبات الأصلى الذى أخذت منه ، حيث انه يتم بالتكاثر الخضرى ولايتعرض بالتالى لأى خلط فى الصفات الوراثية من خلال التكاثر الجنسى .

ولقد أمكن من خلال المزارع النسيجية أخذ خلايا من أنسجة النبات وزراعتها، وتشجيعها على التمايز لتعطى بعد ذلك نباتا كاملا. ويمكن إستخدام أعضاء نباتية مختلفة للحصول على الخلايا المستخدمة فى المزارع النسيجية ، فمن الممكن استخدام القمة النامية للجذور فى إعداد المزارع النسيجية ، حيث توضع فى بيئة غذائية مناسبة معقمة وتحضن فتنمو وتتفرع مكونة جذورا جانبية ، ويتم تقطيع الجذر النامى الى أجزاء بها جذور جانبية ، وتكرر العملية عدة مرات لتكوين أعداد كبيرة ، ثم يتم تشجيعها على التميز مكونة نباتات كاملة ، وبالمثل ، يمكن استخدام القمة النامية للساق ويتم إكثارها وتفريدها الى عدد كبير من النموات ، ثم يتم تشجيعها أيضا على تكوين نباتات كاملة ، كما يمكن استخدام مزارع من أنسجة ورقية أو من البراعيم الزهرية أو الأعضاء الزهرية ، وإنتاج نباتات منها .

ويراعى فى جميع أحوال انتاج المزارع النسيجية ، الدقة الكاملة ، واستخدام التعقيم حتى لاتتلوث المزارع أثناء التحضين وتموت بالتالى الأنسجة. وتتميز الشتلات الناتجة من مزارع الأنسجة ، بأنها تحمل صفات السلالة النباتية التى أخذ منها النسيج ، وبالتالى يمكن المحافظة على جودة الصنف المطلوب إكثاره ، كما يمكن التحكم فى عملية النمو والفحص المستمر ، لضمان خلو الشتلات الناتجة من الأمراض وخصوصا الأمراض الفيروسية . وتمكننا مزارع الأنسجة من إنتاج ملايين الشتلات من مزرعة نسيجية ناتجة عن تنمية ميرستيم واحد ، ويتم الإنتاج بطريقة اقتصادية ، ولقد نجح انتاج الشتلات الجيدة بهذه الطريقة فى كثير من نباتات الخضر والفاكهة ، وإن كان هناك بعض النباتات لازالت مزارع الأنسجة منها تعترضها عقبات ، تحتاج الى دراسات متأنية لحلها .

الهندسة الوراثية وتطبيقاتها

يعتبر العصر الحالى بحق عصر التكنولوجيا الحيوية ، ولقد كان اكتشاف البيولوجيا الجزيئية والوراثة الجزيئية من أهم إكتشافات الانسان فى القرن العشرين ، حيث ساعدت على تفهم الكائنات الحيه ومعرفة أنشطتها والعوامل المؤثرة عليها ، كما ساعدت فى أن يتدخل الانسان بالتعديل والاصلاح لأية اختلالات فى الأنظمة الحيوية، وعلاج الأمراض الوراثية ، وتحسين سلالات الحيوان والنبات والميكروبات ، وإنتاج عديد من المركبات الدوائية بطرق سهلة غير مكلفة .

وعندما اكتشف الانسان الحامض النووى الدنا DNA ، وأمكنه معرفة الشفرة الوراثية وكيفية إنتقال الصفات الوراثية من الآباء الى النسل ، كما أمكنه عزل ومعرفة تركيب الجينات الحاملة للصفات الوراثية ، ومعرفة تركيبها وكيفية عملها وعمليات التنظيم فيها ، فإن كل هذا خلق حقلا ضخما جديدا وفتح المجال بلا حدود لعلم الهندسة الوراثية بتطبيقاته العديدة ، والتى فتحت آمالا واسعة فى تحسين سلالات النباتات والحيوانات ، وفى إنتاج أصناف جديدة من الكائنات الحية ذات قدرات متميزه ، كما أمكن استخدام العلاج بالجينات فى علاج الأمراض الوراثية .

وسوف نحاول هنا فى عجاله ، أن نوضح بعض التطبيقات العملية للهندسة الوراثية ، فى مختلف نواحى الحياه وخصوصا فى الناحية الزراعية .

أولا : فى مجال التخمرات الميكروبية :

أمكن إنتاج العديد من المركبات على المستوى الصناعى بأستخدام الميكروبات مثل المضادات الحيوية ، حيث أمكن من خلال الهندسة الوراثية إنتاج سلالات تنتج المضاد الحيوى بمستوى يصل الى آلاف المرات ، ماكانت تنتجه السلالات الأصلية بها ، وأمكن إنتاج سلالات تنتج مضادات حيوية معدلة بأستخدام الهندسة الوراثية ، كما أمكن إنتاج العديد من المركبات الهامه صناعيا وطبيا بواسطة سلالات ميكروبية معدلة ، وأصبح استخدام الهندسة الوراثية فى إنتاج سلالات ميكروبية ذات قيمة صناعية فى مجال التخمرات ، من أهم المجالات التى تتسابق عليها شركات الأدوية .

ثانيا : إنتاج الفاكسينات المضاده للفيروسات :

أنتجت الكثير من الفاكسينات فى الماضى بهدف إحداث المناعه ضد الأمراض الفيروسية (مثل الجدرى وشلل الأطفال) ، وكانت التكنولوجيا المستخدمة فى هذا الوقت تقوم على استخدام الفيروسات المقتوله أو المضعفة لإحداث المناعة، ورغم الدقة الشديدة التى كانت تستخدم فى اعداد هذه الفاكسينات ، إلا أنه كان يخشى فى بعض الأحوال من تأثيرها على الأفراد . ولما كان الجزء من

الفيروس المسئول عن إحداث المناعه هو الغطاء البروتينى لحبيبة الفيروس ، فقد أمكن من خلال الهندسة الوراثية عزل الجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين ، ثم ادخاله فى بكتريا واستخدام تلك البكتريا فى انتاج هذا البروتين ، والذى يتميز بالامان التام فى استخدامه .

ثالثا : إنتاج بروتينات وهرمونات الثدييات :

كثير من البروتينات التى تنتجها خلايا الثدييات لها قيمة طبية وعلاجيه وتجارية كبيرة ، واستخلاص هذه البروتينات من الثدييات معقد ومكلف أو غير ممكن ، لهذا فان عزل الجين المسئول عن انتاج هذه البروتينات أو الهرمونات أو تصنيعه بطريقة كيماوية ، ثم إدخاله فى خلايا بكتريا لتعديل هذه الخلايا البكتيرية وراثية وجعلها قادرة على إنتاج هذه المواد الهامه ، يعتبر الطريقة المثلى وغير المكلفة للإنتاج . ولقد أمكن من خلال الهندسة الوراثية تعديل خلايا بكتريا أو خميره ، وتحويرها وراثيا لتنتج عديدا من المركبات الهامة .

ولعل انتاج الأنسولين البشرى ، يمثل أحد الأمثله الهامه للنجاح فى إنتاج مركبات دوائية هامة بالهندسة الوراثية . والأنسولين عبارة عن هرمون بروتينى يكونه البنكرياس لينظم تمثيل الكربوهيدرات فى الجسم ، ويحدث مرض السكر نتيجة لنقص أو عدم القدرة على انتاج الأنسولين فى البنكرياس ، وهناك ملايين من مرضى السكر فى العالم وقد استخدم لعلاجهم فى البداية حقن أنسولين مستخرج من بنكرياس الحيوانات مثل البقر أو الخنازير ، ولكن نظرا لأن الأنسولين من مصادر غير بشرية يكون أقل تأثيرا من الأنسولين البشرى ، كما أنه من غير الممكن استخلاص الانسولين من بنكرياس البشر لعلاج المرضى ، لهذا فقد تم التفكير فى استخدام الهندسة الوراثية فى إنتاج الأنسولين البشرى ، لهذا تم دراسة الجين المسئول عن انتاج الأنسولين وعمل جين صناعى منه ، وإدخاله فى خلايا البكتريا أو الخميره لتعديل هذه الخلايا وراثيا ، وبهذا تصبح قادرة على إنتاج الأنسولين ، بنفس تركيب الانسولين البشرى تماما وبكميات كبيرة ، ساعدت مرضى السكر فى أن يعيشوا حياه طبيعية إلى حد كبير .

والنجاح فى انتاج الأنسولين البشرى ودخوله فى نطاق الاستخدام التجارى فى العلاج بشكل كبير ، شجع على محاولة انتاج بعض البروتينات والهرمونات الهامه التى تساعد على علاج كثير من أمراض الإنسان والحيوان ، فى حالة المرضى الذين تكون أجسامهم غير قادرة على إنتاج هذه المركبات بالكميات الكافيه ليعيشوا عيشة طبيعية . والمركبات التى أمكن إنتاجها بواسطة الميكروبات المحورة وراثيا عديدة ، بحيث أصبحت هذه الميكروبات تنتج مركبات لم تكن تنتجها أصلا ، وإنما تنتجها خلايا الإنسان أو الحيوان فى

الظروف العادية ، ومن بين هذه المواد التى أمكن إنتاجها بالهندسة الوراثية فـــى خلايا بكتريا أو خميره ، واستخدامها لعلاج المرضـــى الذيـــن يعـــانون نقصـــا فى هذه المواد:

١- هرمون النمو فى الانسان ، والذى يؤدى نقصه الى انتاج أقزام .

٢- الأنسولين البشرى ، كما سبق أن ذكرنا لعلاج مرضى السكر .

٣- منشط أنسجة البلازمينوجين Tissue plasminogen activator ، لعـــلاج الأزمات القلبية (وقد استخدمت مزارع أنسجة خلايا ثدييات فى الإنتاج) .

٤- الانترليوكين Interleukin-٢ ، وذلك لعلاج بعض حالات السرطان .

٥- الانترفيرون Interferon ، لعلاج الأمراض الفيروســـيه مثـــل الإلتـــهاب الكبدى وبعض أنواع السرطان .

٦- عامل نمو الجلد Epidermal growth factor ، للمســـاعدة فـــى التئـــام الجروح .

٧- يوروكيناز Urokinase ، لاستخدامه كمانع للتجلط .

٨- بروتين سطح فيروسات الالتـــهاب الكبـــدى بـــى Hepatitis B virus surface protein ، لاستخدامه كفاكسين لاحداث المناعه ضــــد فـــيروس الإلتهاب الكبدى الوبائى بى .

٩- هرمون نمو البقر Bovine growth hormone ،الذى يزيد من نمو البقر.

وما سبق ، أمثلة لمركبات هامة أمكن إنتاجها بالهندســـة الوراثيـــة ، وتقـــدم معامل البحوث كل يوم الجديد فى هذا المجال .

رابعا : استخدام الهندسة الوراثية فى تحسين النباتات الاقتصادية :

من المعروف أن استخدام الطرق التقليدية لتحسين النباتـــات مثـــل الإنتخـــاب والتهجين ، يعتبر طرقا بطيئة وصعبه وتحتاج لسنوات طويلة للوصـــول الـــى نتائج جيدة . لهذا فان استخدام الهندسة الوراثية فى هذا المجال أحـــدث انقلابـــا ضخما ، فمن الممكن إحداث تغير وراثى فى نسيج نباتى ، بادخال جينات معينه تحمل صفات وراثية جديدة ، ثم اكثار خلايا هذا النسيج بطرق زراعة الأنسجة، والحصول على نباتات كاملة محورة وراثيا لتحمل الصفات الجديدة . كما أنـــه من الممكن إدخال الجينات الجديدة الى داخل النباتات مباشرة ، وإحداث التحـــور الوراثـــى فيـــها عـــن طريـــق إدخـــال الجينـــات المطلوبـــة داخـــل بكتريـــا *Agrobacterium tumefaciens*،ثم إدخال البكتريا داخـــل النبـــات حاملـــه الجينات المنقولة .

والمعروف أن البكتريا المذكورة ممرضة لبعض النباتات أصلا ، ويتم تعديلها وراثيا بحيث لاتسبب مرضا للنبات الذى تدخله . وتتميز هذه البكتريا بأنها تحتوى على بلازميد كبير الحجم نسبيا ، به أجزاء وراثية تساعد على نقل الجينات المطلوب نقلها مع دخول الميكروب داخل النبات ، مما يكسب النبات الصفات الجديدة المرغوبة . وقد أمكن إدخال صفات جديدة فى النباتات مثل المقاومة لبعض الأمراض والحشرات والحشائش ، كما أمكن إنتاج نباتات مقاومة للإصابة الفيروسية ، بل وأمكن إدخال جينات تعطى النباتات القدرة على انتاج مواد لاتنتجها النباتات أصلا .

وهناك إتجاه تسير فيه البحوث بخطوات واسعة ، نحو إنتاج نباتات تعطى لمن يأكلها مناعه ضد عديد من الأمراض التى تصيب الانسان .

خامسا : فى مجال الحيوان :

كما حدث فى النبات ، فقد أمكن إدخال صفات فى الحيوانات تعطى الحيوان القدرة على إنتاج مواد لم يكن ينتجها أصلا ، وذلك لاستخدام هذه المركبات الناتجة فى علاج الأمراض ، وهناك تجارب على إنتاج حيوانات تعطى ألبانها للأطفال مناعة ضد الأمراض ، أو تمد الأطفال المرضى بمركبات تنقصهم لعلاج بعض أمراضهم الوراثية ، أو يتم فصل هذه المركبات من اللبن واستخدامها فى العلاج .

ومن ناحية أخرى ، فالهندسة الوراثية تستخدم لزيادة إنتاج اللحم واللبن فى الحيوانات ، وزيادة معدل نموها ومقاومتها للأمراض ، بل إن هناك تجارب مبشرة لاستخدام الحيوانات مثل الخنزير ، فى انتاج هيموجلوبين بنفس تركيب الهيموجلوبين البشرى يستخدم فى عمليات نقل الدم ، ونجاح مثل هذه التجارب سوف يحل جذريا مشكلة التبرع بالدم .

سادسا : فى مجال الإنسان :

من المعروف أنه من المستحيل استخدام تقنيات الوراثة التقليدية ، مثل التهجين أو استخدام الطفرات ، فى الانسان ، لذلك فقد تأخرت كثيرا معلوماتنا عن وراثة الانسان ، ولكن الهندسة الوراثية أحدثت إنقلابا ضخما فى مجال وراثة الانسان ، وهناك تعاون عالمى فى مجال الوصول الى دراسة كاملة للجينوم البشرى (المادة الوراثية الموجودة فى جميع كروموسومات الخلية البشرية) .

وعموما ، فان هناك العديد من تطبيقات الهندسة الوراثية ، التى أفادت كثيرا فى تفهم العديد من الأمراض الوراثية فى الانسان وعلاج بعضها . وقد أمكن تتبع التاريخ المرضى لبعض العائلات ، التى تعانى نسبة من نسلها أمراضا وراثية معينة ،

ومعرفة الأجزاء فى جيناتها التى بها الأخطاء الوراثية ، وأمكن فى بعـــض الأحـــوال إدخال جينات سليمة ، ونجح العلاج بالجينات فى أعداد لابأس بها من الحالات .

(الموجــــز)

ظهرت فى نهايات هذا القرن العديد مـــن التطبيقــات الحديثــة فــى مجــال التكنولوجيا الحيوية ، التى كان لها انعكاسات كبيرة على رفاهية الانسانية وخصوصـــا فى مجال الزراعة . ولقد استخدمت تقنية زراعة الأنسجة على نطاق تجــارى متسـع للمحافظة ولإكثار الأصناف الجيدة من النباتات ، وإنتاج نباتات خالية من الأمــراض . وتعتمد هذه التقنيه على زراعة خلايا ميرستيمية مأخوذة من أنسجة الأصناف الممتـازه ، فى بيئات معملية معقمة تحت ظروف تتميز بالدقة الشديدة ، حيث يمكن بمعـــاملات خاصة دفع هذه الخلايا للتكاثر وإنتاج ملايين الأفراد ، ودفعها الى التميز الى نباتـــات كاملة منتجة لشتلات تماثل تماما الصنف المأخوذه منه وخالية من الأمراض ، وقد أدت تقنية زراعة الأنسجة الى تحسين إنتاج عديد من نباتات الخضر والفاكهة ، كما ونوعا.

أما المجال الثانى الذى يمثل انقلابا ضخما فى مجال العلم والانتاج الزراعـــى والطب ، والذى أدى بحق لتسمية هذا العصر باسم عصر التكنولوجيا الحيوية ، فـــهو مجال الهندسة الوراثية ، فقد أمكن للإنسان اكتشاف المادة الحامله للمعلومات الوراثيـة، وهى الحامض النووى الدنا DNA ، وأمكنه معرفة الشفره الوراثية وتركيب الجينـــات التى تحكم مختلف وظائف الخلايا الحيه ، وأمكن عزل هذه الجينات بل وأمكن انتاجــها بطرق صناعية .

ولقد أمكن التعامل مع الجينات ونقلها من كائن حى لآخر ، سواء مـــن نفــس النوع أو من أنواع بعيدة عن النوع الأصلى المحتوى على هذا الجين . ومـــن خــلال التعامل مع الجينات ونقلها ، أمكن إنتاج مركبات كان من غير الممكن إنتاجها ســـواء من حيث التكلفة العالية للإنتاج أو استحالة الإنتاج . وأمكن اســتخدام طرقــا ســريعة لتحسين السلالات الميكروبية والبنائية والحيوانيه ، من أجل إنتاج أفضل وأكثر وفـوه ، كما أمكن علاج الكثير من الأمراض عن طريـــق إنتـــاج الــهرمونات والبروتينـــات المطلوبه للعلاج ، مثل الأنسولين لعلاج السكر وهرمون النمو لعلاج نقص النمو فـــى الانسان ، كما أمكن إستخدام العلاج الجينى فى علاج العديد من الأمراض الوراثية فى الانسان .

(أسئلـــــــــة)

١- ناقش بأختصار الفكرة الأساسية لتكنولوجيا زراعة الأنسجة ، وأهميتها التطبيقية .

٢- أحدثت الهندسة الوراثية إنقلابا واسع النطاق فى مجال علاج الأمراض – نـــاقش موضوع انتاج الأنسولين بالهندسة الوراثية ، من حيث فكرته الأساسية وأهميته .

٣- أذكر خمسة أمثلة لمواد ذات قيمة علاجية لأمراض الانســـان ، أمكـن انتاجـها بالهندسة الوراثية – مع ذكر أهمية كل من هذه الأمثلة .

٤- ناقش تطبيقات الهندسة الوراثية فى مجال تحسين الانتـــاج النبــاتى والحيوانـــى ، موضحا الفكره الأساسية التى يتم على أساسها إدخال صفات وراثية جديدة فيها .

﴿الباب الخامس﴾

التخمرات الميكروبية Microbial Fermentations

الصناعات التخميرية تقوم على استخدام الكائنات الدقيقة من خلال تقنيات خاصة لإنتاج منتجات ميكروبية ، سواء ، في صورة خلايا ميكروبية أو مستخلصات منها أو منتجات أولية أو ثانوية للميكروبات ، وهذه المنتجات لها قيمة كبيرة سواء كغذاء أو كإضافات غذائية أو محسنات للطعم والقوام في الغذاء ، أو لاستخدامها كمذيبات في الصناعات الدوائية وغيرها من التطبيقات.

وعلى ذلك فإن الصناعات التخميرية تمثل أحد التقنيات البيولوجية الهامة جدا ، التي تصل استثماراتها عالميا إلى مئات المليارات من الدولارات ، ومن الصعب حصر أنواع الصناعات التخميريه القائمة في مختلف بلدان العالم وإن كان من أهمها:-

١- إنتاج الخلايا الميكروبية سواء تلك المستخدمة كبادئات في مختلف صناعات الأغذية والألبان ، وإنتاج خلايا الخميره اللازمة لصناعة الخبز وإنتاج البروتين والدهن الميكروبي ، وإنتاج اللقاحات الميكروبية لاستخدامها في إحداث المناعة ضد الأمراض المختلفة.

٢- إنتاج نواتج التمثيل الميكروبي الأولية مثل الكحولات ، الكيتونات، الأحماض العضوية، الأحماض الأمينية - السكريات العديدة ... الخ

٣- إنتاج نواتج التمثيل الثانوية مثل المضادات الحيوية والمبيدات الحيوية.

٤- إنتاج الإنزيمات مثل إنزيمات الاميليز والبروتينيز والليبيز والجلوكوزاكسيديز.

ويعتمد نجاح الصناعة التخميرية على عاملين أساسين ، هما اختيار السلالة الميكروبية المناسبة ، وتوفر المواد الخام لهذه الصناعة.

أ- السلالات الميكروبية

لاشك أن توفر سلالة قوية قادرة ، على استخدام المواد الخام المتوفرة بكفاءة عالية مع السرعة العالية للإنتاج ، تعتبر أساسا لقيام صناعة تخميرية ناجحة. لهذا فمن المهم انتخاب السلالة الجيدة ، وكانت التقنية الأساسية للحصول على سلالة جيدة هي عزل عدد كبير من السلالات ومقارنة كفاءتها في الإنتاج ، وفي مرحلة أخرى استخدمت العوامل الفيزيائية أو الكيمائية لإنتاج طفرات من سلالة منتقاة ، ثم تقدير كفاءة هذه السلالات في إنتاج المنتج المطلوب واختيار أحسنها. ومع تقدم طرق التقنية الحيوية دخلت الهندسة الوراثية في مجال تحسين السلالات، وأصبح من الممكن إدخال جينات إلى سلالات ميكروبية تحسن من كفاءتها في الإنتاج أو تجعلها أكثر مقاومة للظروف غير المواتية. بل تطور الأمر إلى إدخال جينات جديدة داخل خلايا ميكروبية،

يجعلها قادرة على إنتاج مركبات لم تكن الخلايا الأصلية قادرة على إنتاجها، بل تجعلها قادرة على إنتاج بروتينات أو هرمونات إنسانية وحيوانية لها قيمة علاجية ذات أهمية قصوى.

ب- المواد الخام المستخدمة في الصناعات التخميرية

نظرا لأنه من المهم أن تقوم الصناعات التخميرية على أسس اقتصادية ، قادرة على تحقيق أرباح تغطي تكاليف هذه الصناعة الباهظة التكاليف وتحقق فائضا للمستثمرين ، فإن توفر المواد الخام وجودتها ورخصها ، تعتبر عوامل أساسية لنجاح الصناعة. وهناك بالتالي عدة اعتبارات عند اختيار المواد الخام للصناعة التخميرية يذكر منها:

١- أن تكون المادة أو المواد الخام متوفرة في البلد وبسعر مناسب.
٢- أن تكون متوفرة على مدار السنة أو من الممكن تخزينها بتكلفة معقولة.
٣- أن تكون مرتفعة في محتواها من مصادر الكربون ، التي تمثل أساس المواد الخام للصناعات التخميرية ، وفي صورة مناسبة للسلالة المستخدمة.
٤- يفضل إن تحتوي علاوة على مصدر الكربون ، نسبا ملائمة من مختلف العناصر الغذائية اللازمة للسلالة النامية ، أو يكون تدعيمها بهذه العناصر الغذائية بتكلفة محدودة.
٥- أن تكون المعاملات الابتدائية التي يجب أن تجرى عليها لتحويلها إلى حالة مناسبة للصناعة بسيطة وغير مكلفة.
٦- أن تكون موجودة بالقرب من مصانع الإنتاج بقدر الإمكان لتقليل تكاليف النقل.

وتمثل مخلفات مصانع الأغذية والمخلفات الزراعية ومخلفات تكرير البترول ، أهم مصادر الخامات للصناعات التخميرية ، ويلاحظ أن استخدام هذه المخلفات قد يكون أحد عناصر تحسين اقتصاديات الصناعات الأصلية التي نتجت عنها هذه المخلفات ، كما يلاحظ أن استخدام هذه المخلفات يعتبر عاملا هاما للمحافظة على البيئة من التلوث فيما لو تراكمت هذه المخلفات دون أن تستخدم استخداما ملائما.

وعلى المستوى المحلي ، فإن مصر غنية بالمخلفات التي يمكن أن تقوم عليها صناعات تخميرية ناجحة باستخدام تقنيات ملائمة. ومن هذه المخلفات ما يلي:-

١- المخلفات السليولوزية

مثل مخلفات صناعة السكر (الباجاس) وقش الأرز وقوالح الذرة وحطب القطن وغيرها من المخلفات الزراعية ، ولكي نتصور حجم هذه المخلفات فإن مخلفات

صناعة السكر تصل إلى مئات الالاف من الأطنان ، كما تصل كمية قوالح الذرة إلى ٦٠٠ الف طن ومخلفات ضرب الأرز إلى٢٥٠ الف طن وهكذا. وهذه المخلفات تصل نسبة السليولوز بها لحوالي من ٤٠ % - ٥٠ % ، علاوة على حوالي٢٠-٣٠% من اللجنين والهيمسليولوز.

ويلاحظ أن المواد السليولوزية لا يمكن استخدامها مباشرة في أغلب الصناعات التخميرية ، دون معاملات أولية تحول المواد السليولوزية إلى سكريات بسيطة قابلة التخمر ، أو استخدام خليط من أكثر من ميكروب أحدها قادر على تحليل السليولوز إلى مواد بسيطة تستخدمها ميكروبات أخرى لإنتاج مواد مفيدة.

أما من ناحية المعاملات التي تجرى صناعيا لتحويل المواد السليولوزية إلى مواد قابلة للاستخدام في الصناعات التخميرية ، فإن أغلبها يعتمد على الطحن والغليان مع التحلل الكيماوي سواء بالأحماض أو القلويات ، فيما يؤدى الى تكسير السلاسل الطويلة المعقدة في السليولوز وغيره من المركبات إلى سلاسل قصيرة فأقصر، حتى تتحول تلك المركبات إلى سكريات بسيطة أهمها الجلوكوز فتصبح بذلك صالحة لعمليات التخمر المختلفة ، وكمثال لأثر هذه المعاملات فإن تحلل القوالح بحامض الكبريتيك(١:١٠)والغليان تحت ضغط ، تؤدى إلى الحصول على٣٠٠ كيلوجرام سكر قابل للتخمر من كل طن قوالح ، وتصلح هذه الكمية لإنتاج ٢٥٠ كم خميرة تحتوى على ٥٠% بروتين ، والخميرة الناتجة يمكن إستخدامها لتغذية الإنسان أو الحيوان.

٢- مخلفات مصانع الأغذية

تنتج مصانع الأغذية العديد من المخلفات ، وكثير من هذه المخلفات يمكن اعتبارها مصدرا جيدا للمواد العضوية التى تصلح لعديد من الصناعات التخميرية. ويلاحظ أن هذه المخلفات من الممكن أن تسبب مشاكل بيئية خطيرة للمصانع لو لم يحسن استخدامها. وفى نفس الوقت فإن استخدامها لإنتاج مركبات ذات قيمة اقتصادية، يزيد من اقتصاديات المصانع. وتختلف حجم هذه المخلفات حسب الصناعة، بحيث تتراوح نسبتها من٨-٦٥%من الخامات المستخدمة فى الصناعات الغذائية . ومن أهم المخلفات فى مصانع الأغذية ما يلى : المولاس- مخلف منقوع الذرة-مخلفات تصنيع الأغذية (قشور الفاكهة والخضروات والبذور - وشرش اللبن - الخ) .

والمولاس Molasses ،يمثل أحد أهم نواتج صناعة السكر ، ويعتبر من أهم المخلفات الصالحة للتصنيع في التخمرات وأسهلها استخداما ، حيث يحتوى على أكثر من٥٠%سكريات ذائبة أغلبها سكروز ولا يحتاج إلى معاملات معقده قبل استخدامه في التخمرات ، والمولاس عبارة عن متخلف بنى غامق كثيف ينتج بعد الطرد المركزي لبلورات السكر من العصير المركز سواء في المرحلة الأولى أو عند التكرير. وتصل كمية المولاس الناتجة من تصنيع سكر القصب حوالي ٥٠٠ الف طن تحتوى على

أكثر من ٥٠% سكر أغلبه سكروز ، علاوة على الكميات التي تنتج من إنتاج السكر من البنجر.

أما مخلف منقوع الذرة *Corn steep liquor*، فإنه ينتج عند صناعة النشا من الذرة ، وهو مخلف غني بالعناصر الغذائية وتصل نسبة المواد الصلبة في هذا المخلف إلى٦-١٢ % ويتم تركيزه حتى ٥٠ % مواد صلبة ، ويستخدم جزء منه بإضافته لعلف الحيوان ، وهو بيئة جيدة لتنمية عديد من الميكروبات مثل الخمائر والفطريات.

أما الشرش Whey الناتج عن صناعة الجبن فيمثل احد المخلفات الهامة لصناعات الألبان ، وينتج على مستوى العالم أكثر من ٧٠ مليون طن من هذا المخلف. ويحتوي الشرش على حوالي ٤,٩% سكر لاكتوز ، ٠,٨% بروتين ، ٠,٣% دهن ويحتوي على ٦,٩ % مواد صلبة كلية. ويعاب على هذا المخلف ارتفاع نسبة الملح فيه ، لهذا فإنه يستخدم لتنمية الميكروبات التي لا تتأثر بارتفاع تركيز الملح والقادرة على تخمير سكر اللاكتوز.

أما الهيدروكاربونات Hydrocarbons ، فهي أهم المخلفات الأساسية الناتجة عن صناعات البترول ، وبعضها مواد غازية مثل الميثان والإيثان والبروبان وبعضها هيدروكاربونات سائلة أو نصف صلبة، والهيدروكاربونات الغازية أفضل في الصناعة حيث يمكن التخلص من بقاياها في المنتج النهائي بسهولة ، بينما الهيدروكاربونات الأخرى فهناك احتمالات لعدم القدرة على التخلص من بقاياها في المنتج النهائي بما لها من آثار صحية ضارة. وهناك عدد من الميكروبات قادرة على النمو على الهيدروكاربونات

إنتاج كحول الإيثايل
Production of Ethyl Alcohol

تمثل صناعة كحول الإيثايل إحدى الصناعات التخميرية الهامة وأكثرها انتشارا في العالم ، نظرا لتعدد استخداماته في جميع المجالات ولانخفاض التكلفة الإنتاجية له عند إنتاجه بواسطة التخمر ، نتيجة لاستخدام مواد خام رخيصة الثمن في صورة مخلفات للمصانع الزراعية والغذائية.

الاعتبارات الواجب مراعاتها في خطوات الصناعة

(١) اختيار السلالة Selection of strain

يجب أن تتوفر في سلالة الخميرة المستخدمة في الصناعة بالإضافة إلى ما ذكر سابقا ، قدرتها على تحمل تركيز عالي من السكر والكحول ، وارتفاع كفاءتها في إنتاج الكحول، وثاني أكسيد الكربون.

والخميرة المستخدمة في الإنتاج عادة هي *Saccharomyces cerevisiae* ،على أن تكون من سلالة ذات كفاءة عالية فى الاستفادة من السكر وتحمل تركيز عالي من الكحول.

(٢) تحضير البادئ : Preparation of starter

ويجري تحضيره من السلالة المنتخبة النقية المحفوظة ، وتعمل عدة تنشيطات متتالية من هذه المزرعة (Several subcultures) في محلول التخمير المعقم على درجة حرارة (٢٥-٣٠ ° م) ، حتى نحصل في النهاية على كمية من اللقاح النشط Active seed yeast تكفي لتلقيح ٤ لتر من البيئة ، وبعد ذلك تنقل خطوات التلقيح هذه من نطاق المعمل إلى المصنع. وأول تنك يلقح في المصنع يسع من (١٠-٤٠ جالون) ، وتكمل بعد ذلك خطوات الصناعة في المصنع.

ويجب مراعاة شروط التعقيم في جميع الخطوات السابقة والتأكد من نقاوة المزرعة.

(٣) المواد الخام : Raw materials

يوجد عديد من المواد الخام المحتوي على سكريات قابلة للتخمر بواسطة الخميرة ، ويمكن تقسيم هذه المواد إلى ثلاثة أقسام :

(أ) مواد نشوية : مثل (الذرة – الشعير – القمح – الأرز) وغيرها من الحبوب والبقوليات ، كذلك البطاطس والمحتوية على نسبة عالية من المواد النشوية

(ب) مواد سليولوزية : مثل الخشب ومخلفات صناعة الورق من الخشب Waste sulfite liquor.

(جـ) مواد سكرية : مثل المولاس الناتج من قصب السكر والبنجر وعصائر الفاكهة .

ويختلف نوع المادة الخام المستخدمة من بلد لآخر ، تبعا لنوع المواد الخام المتوفرة وانخفاض سعرها ودرجة ملائمتها للإنتاج ، فمثلا في المانيا يستخدم بكثرة البطاطس ، بينما في فرنسا يفضل البنجر، وفي السويد تستخدم مخلفات صناعة الورق وفي إيطاليا تستخدم العنب ، البنجر والمولاس ، بينما في مصر تفضل استخدام مولاس القصب لتوفره وانخفاض سعره وملاءمته في الإنتاج.

(٤) تركيز السكر : Concentration of sugar

يتراوح تركيز السكر المستخدم في هذه الصناعة من ١٠ – ١٨% ، والتركيز

المعتاد استخدامه هو ١٢ % ، مع مراعاة عدم ارتفاع تركيز السكر أكثر من اللازم حتى لا يكون له تأثير عكسي على الكفاءة الإنتاجية، لتأثيره المثبط على الخميرة بالإضافة إلى زيادة المدة اللازمة للتخمير . كذلك فإن استخدام تركيز أقل من اللازم يعتبر غير اقتصادي من وجهة الكفاءة الإنتاجية.

(٥) المواد المغذية : Nutrient substances

بالرغم من أن المولاس يحتوي على معظم العناصر الغذائية اللازمة للتخمر، إلا إنه يضاف أملاح أمونيوم في صورة كبريتات أمونيوم أو فوسفات أمونيوم إلى محلول التخمير ، كمصدر للنيتروجين والفوسفور، ويحدد نسبة إضافة كل منهما التركيب الطبيعي للمولاس.

(٦) درجة حموضة محلول التخمير : pH of the mash

تعتمد هذه الصناعة إلى درجة كبيرة على درجة حموضة محلول التخمير ، حيث أن درجة الحموضة الملائمة للتخمر (٤,٠-٥ ,٤) ، وتعتبر أيضا غير ملائمة لنمو معظم أنواع البكتريا مما يؤدي إلى الحد من احتمال حدوث تلوث ، بالإضافة إلى استخدام كمية كبيرة من البادئ (الخميرة) ، مما يؤدي إلى الاستغناء عن عمليات التعقيم في المراحل الأخيرة للإنتاج وبالتالي تقليل التكلفة الإنتاجية. مع مراعاة عدم زيادة البادئ والحموضة أكثر من اللازم حتى لا يؤدي ذلك إلى إتجاه التخمر إلى منتجات أخرى بدلا من الكحول كالجليسرول مثلا.

(٧) التهوية : Aeration

تحتاج الخطوات الأولى في الإنتاج (تحضير البادئ) إلى تهوية كافية حيث يتم فيها إنتاج خلايا ، لذلك يجب مراعاة تعقيم الهواء في هذه الخطوات وامراره بالمعدل الأمثل للنمو ، بينما مراحل التخمر النهائية لإنتاج الكحول تتم في ظروف لا هوائية.

(٨) درجة الحرارة : Temperature

درجة الحرارة الملائمة تقع بين ٢٠ -٢٧ م ، ويجب مراعاة عدم ارتفاع درجة الحرارة أثناء التخمير ، وذلك باستخدام أدشاش ماء خارج المخمر أو مواسير يمر بها ماء بارد محاطة بجدار المخمر تبعا لتصميم المخمر، حيث أن ارتفاع درجة الحرارة أعلى من ٢٧ م تكون ملائمة لنمو البكتريا الملوثة بالإضافة إلى تطاير الكحول.

(٩) وقت التخمر : Time of fermentation

تتم عملية التخمير عادة في ٥٠ ساعة أو أقل طبقا للطريقة المستخدمة ودرجة الحرارة وتركيز السكر وغيرها من العوامل السابقة الذكر.

(١٠) تخمير محلول التخمر : Fermentation of the mash

بعد تجهيز المواد الخام في الصورة الملائمة للتخمير وضبط كل الظروف السابقة الذكر، يلقح المخمر بالبادئ بالنسبة الملائمة. وفي بدء عملية التخمير تستنفذ الخلايا الأكسجين الذائب في المحلول ، ثم بعد ذلك تتجه إلى الظروف اللاهوائية وتنشط الخلايا في تكوين الكحول ، وتتلخص التفاعلات التي تقوم بها خلايا الخميرة في خطوات التخمير فيما يلي:

جلوكوز ——لاهوائي——◄ ٢كحول +٢ ثاني أكسيد كربون + طاقة

$$C_{6}H_{12}O_{6} \xrightarrow{\text{Anaerobic}} 2CH_{3}CH_{2}OH + 2CO_{2} + \text{Energy}$$

طرق إنتاج الكحول بالتخمر: Methods of ethanol production by fermentation

نظام الدفعة Batch method هو النظام الأكثر شيوعا والمستخدم صناعيا لإنتاج الكحول ،وفي هذا النظام يستخدم تركيز عالي من المادة القابلة للتحول (نسبه١٠-٢٠ % وزن / حجم) من السكر والمدعم بالعناصر الغذائية الأخرى ، ويغذى بها تنك كبير ويلقح ببادئ يمثل(٥-١٠ % حجم) من الخميرة النامية النشطة.

وتستمر عملية إنتاج الكحول حتى تصل إلى أقصى كفاءة إنتاجية ممكنة ، بعد ذلك ينقل المحلول المتخمر إلى تنك آخر للتخزين ، ثم ينظف التنك ويعقم لبدء مرحلة إنتاجية جديدة وهكذا. والحلقة الإنتاجية هذه تستغرق ٣٦ - ٧٢ ساعة ، ورغم أن هذه الطريقة بسيطة وحساسة إلا إنها أقل كفاءة وبطيئة ، وأن مرحلة إعداد البادئ تمثل نقطة الضعف لسرعة التخمير.

كما أن الوقت اللازم لتفريغ وتنظيف تانك الإنتاج له دور أيضا في خفض الكفاءة الإنتاجية أو كمية الكحول المنتج.

وحديثا استخدم الترشيح الدقيق بدلا من الطرد المركزي لتركيز خلايا الخميرة لإعادة استخدامها في إنتاج الكحول.

أن أحسن تعديل تم لعمليات التخمير نتج عندما استخدم التخمير المستمر ، فالنظام المستمر والتجهيزات الخاصة به ومعدات فصل المنتج أقل من مثيله المستخدم في نظام الدفعة الواحدة مما يؤدي إلى خفض تكلفة الإنتاج. هذا بالإضافة إلى أن النظام المستمر أكثر كفاءة في التحكم الآلي لعملية التخمير. والتحسينات الأساسية تتضمن الكفاءة الإنتاجية وجودة الإنتاج.

استخلاص الكحول : Distilling and Refining the alcohol

بعد انتهاء عملية التخمير يجمع المحلول المتخمر وينقل إلى وحدات التقطير ، حيث يفصل الكحول والنواتج الثانوية.من المحتويات الأخرى، وبعد انتهاء أول مرحلة من التقطير يصل تركيز الكحول إلى٦٠ – ٩٠ %، ثم تجري عملية تركيز حتى تصل إلى ٩٥ % بامراره على وحدات تكرير وتكثيف ، كما قد يجرى عمليات نزع للماء dehydration للحصول على الكحول المطلق.

المنتجات الثانوية لصناعة الكحول :

١ – متخلف الخميرة : *Slope waste*

يطلق على المواد المتبقية بعد تخمير المولاس وتقطير المحلول المتخمر لفصل الكحول اسم (Slope waste) ، حيث يجرى عليه عملية تركيز وتجفيف ويحفظ لاستعماله في تغذية الحيوانات ، وذلك لإنها مواد ذات قيمة غذائية عالية حيث تحتوي على فيتامينات – مواد نتروجينية أملاح ومعادن. فتصل نسبة المادة الجافة إلى ٧,٧% ، والنيتروجين الكلي ٤ ,% ، والسكر المحول ٢ ,١% ، والرماد٣,٢% ، وهذا التحليل يمثل ناتج مخلف صناعة الكحول من مصنع التقطير بالحوامدية .

٢– الزيت الكحولي : *Fusel oil*

يطلق على المواد الناتجة من إعادة تكرير الكحول Fusel oil ، وهذه تمثل ١,–٧,% من الكحول الخام المتقطر. ويختلف تركيبة تبعا لنوع المادة الخام المستخدمة في الإنتاج ونوع السلالة وطريقة التخمر وطريقة التقطير، وهو خليط من كحولات مختلفة لها قيمة كبيرة.

إنتاج حمض الستريك
Production of citric acid

يعتبر الإنتاج التجاري لحمض الستريك عن طريق التخمر من أهم الصناعات القائمة على التخمرات الميكروبيولوجية.

وأول من فصل حمض الستريك أو جرى عملية بلورة Scheele سنة ١٧٨٤ ، وحمض الستريك عبارة عن مكون طبيعي لكثير من الفواكه مثل الموالح والأناناس والكمثرى والخوخ والتين وغيرها من الفواكه والنباتات.

ومنذ عام ١٨٩٣ أجريت محاولات عديدة لإنتاج حامض الستريك بالتخمر ، حتى نجحت الأبحاث في إنتاجه عام ١٩١٧ باستخدام فطر *Aspergillus niger* ، ويتكون حامض الستريك كمركب وسطى من خلال تحلل السكريات هوائيا في دوره كربس Kreb's ، ويصل الإنتاج العالمي من حمض الستريك إلى أكثر من ١٠٠ الف طن

سنويا ، فهو يستعمل على نطاق واسع في صناعة الأغذيـــة (مشــروبات الفواكــه – الحلويات – المربى – الفواكه المحفوظة) ، ومستحضرات التجميل وغيرهـــا. وقـــدرة حمض الستريك على تخلل الايونات المعدنية في الوسط الحامضي ، يجعله مفيدا فـــي صناعة الشامبو والمحاليل الالكتروليتية ودباغة الجلود الحيوانية ، وحتى في تنظيـــف الأنابيب في مصانع الزيت.

ولقد حدث تحسين للســـلالة الأصليـــة مـــن الفطـــر ، وهنـــاك طفـــرة مـــن *Aspergillus niger* المنتجة بالتهجين تصل قدرتها على إنتاج حوالي ٨٠ جـــرام أو أكثر من حمض الستريك لكل ١٠٠ جرام من الجلوكوز المستخدم.

والإنتاج يتم على مرحلتين ، الأولى يحدث فيها نمو الميسليوم الخاص بـــالفطر ، وفي الطور الثاني يقل النمو ويتراكم الحامض ، ويلاحظ أن تراكم الحامض في البيئـــة يكون نتيجة لعدم تحوله إلى حامض اكونيتك Aconitic acid بالتـــالي تتوقـــف بـــاقي خطوات اكسده السكر التي من المفروض أن تتاكسد في الظروف الطبيعية إلى ثـــاني أكسيد كربون وماء، ولكن توقف الأكسدة فيما بعد تكون حامض الستريك يؤدي إلـــى تراكمه. ويتم إيقاف التحولات التالية لحامض الستريك نتيجة تثبيط إنزيـــم Aconitase الذي يحول حامض الستريك إلى حامض اكونيتك ، لهذا فإن إنتاج حامض الستريك يتم في ظروف غير متزنه يكون فيها الحديد في مستوى منخفض ، أو بإستخدام ســـلالات تتميز بنشاط منخفض لإنزيم Aconitase ، كما أن درجـــة الحموضـــة المنخفضـــة (pH ٢) تساعد على تثبيط الإنزيم .

العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك :

(١) السلالة :

توجد سلالات عديدة من الفطريات لها القدرة على إنتاج حمض الستريك ولكـــن بدرجات مختلفة في الكفاءة وجودة المنتج . ولذلك لابد من إنتخاب السلالة التي تتمـــيز بكفاءة عالية في الإنتاج لاستخدامها في النطاق التجاري للإنتاج ، بالإضافة إلى درجـــة جودة عالية للمنتج ، ورغم أن بعض الفطريات والخمائر يمكن استخدامها في الإنتـــاج إلا أن سلالات *Aspergillus niger* هي أفضل السلالات في الإنتاج.

(٢) درجة الحموضة : pH

أوضحت كثير من التجارب ، أن لدرجة حموضة البيئة أثر كبير علـــى طبيعـــة المنتجات الناتجة من التخمر، فقد وجد أن الحموضة الملائمة لإنتاج حمض الســـتريك هو pH منخفض ، ويختلف درجته تبعا للفطر المســـتخدم فمثـــلا بعـــض ســـلالات *Aspergillus* يلائمها pH ٢ ، بينما الإنتاج بواســـطة *Citromyces glaber* يلائمـــه (٣،٤).

ومن نتائج ابحاث كثيرة وجد أن pH (١،٦-٢،٢) ، هو المدى الملائم للإنتـــاج ،

بينما عند ارتفاع الـ pH إلى (٤-٥) عند استخدام *A.niger* يتكون حمض اكساليك بنسبة مرتفعة ونسبة منخفضة من حمض الستريك ، كما أن عدم ضبط الـ pH للدرجة الملائمة يؤدي إلى نشاط إنزيم aconitase ، ويقلل من تراكم حمض الستريك.
مما سبق يتضح أن الـ pH الأمثل هو (٢) للإنتاج عند استخدام *A.niger* في البيئة الصناعية.

(٣) درجة الحرارة :

تتوقف درجة الحرارة الملائمة للإنتاج على البيئة المستخدمة وطريقة الإنتاج المتبعة ونوع الميكروب ، وعادة فإن الدرجة المستخدمة هي٢٥-٣٠ ºم ، وحدد البعض الدرجة المثلى للإنتاج من ٢٦-٢٨ ºم ، حيث أن ارتفاعها عن ٣٠ ºم يؤدي إلى إنتاج حمض الأكساليك بدلا من الستريك.

(٤) تأثير مصدر الكربون المستخدم :

ينتج حمض الستريك ميكروبيولوجيا من كثير من المركبات العضوية الكربونية المختلفة في طبيعتها وعدد ذرات الكربون بها ، واجري كثير من الأبحاث على مصادر الكربون المختلفة المستخدمة في الإنتاج ، ففي سنة ١٩٥٩ وجد بعض الباحثين أن المالتوز أفضل من السكروز في الإنتاج ، كما وجد آخرون أن السكروز يفوق مصادر الكربون الأخرى في، الإنتاج وقدرته للتحول ، بينما البنتوزات والهكسوزات الأخرى غير ملائمة ، وقد وجد أن أعلى إنتاج لحمض الستريك يمكن التوصل إليه عند تركيز ١٢٥-١٥٠جم سكر/ لتر بواسطة *A.niger*.

٥- العناصر المعدنية الدقيقة Micronutrients

لوحظ أن إضافة نسب منخفضة من الزنك (٥و جزء في المليون) والنحاس (٠٢٥و جزء في المليون) والمنجنيز (١و جزء في المليون) تحسن الإنتاج. أما بالنسبة للحديد فإن وجوده بنسبة ضئيلة تحسن الإنتاج وزيادته تخفض الإنتاج .

والجدول التالي يوضح تأثير تركيز الحديد على إنتاج حمض الستريك باستخدام طفرة لسلالة : *Aspergillus niger* .

تركيز الحديد ملجرام / لتر	كفاءة الإنتاج %
صفر	٦٧
٠٫٠٥	٧٣
٠٫٥٠	٨٨
١٫٠٠	٧٦
١٠٫٠٠	٣٩

حيث أن استخدام السكروز كمصدر للكربون في الصناعة يعتبر مكلفا وغير اقتصادي ، ولذلك يشترط في المادة الخام المستخدمة في الصناعة كمصدر للكربون أن تكون متوفرة ورخيصة وذات محتوى عالي من السكريات القابلة للتخمير. ومصادر الكربون المستخدمة أنواعها كثيرة كما سبق الذكر ومن أهم هذه المواد استخداما هي المولاس.

يقابل المشتغل بإنتاج حمض الستريك مستخدما المولاس كمادة خام المشاكل الآتية:

١- ينقص المولاس بعض عناصر الغذائية مثل النتروجين والفوسفور _ وهذه المصادر يدعم بها المولاس قبل استخدامه.

٢- احتوائه على محتوى عالي من المعادن ، وهذه نتخلص منها بإحدى الطرق الآتية:

أ) تخفيف المولاس للإقلال من هذه المعادن.

ب) رفع مقاومة الميكروب للمحتوى العالي من المعادن بإضافة نسبة صغيرة من الكحول.

جـ) ترسيب المعادن بإضافة سيانيد الحديد لتكوين مركب معقد.

٣- المحتوى العالي من الكالسيوم ، وهذا يرسب بإضافة اكسالات الأمونيوم.

تدعيم المولاس المستخدم في الصناعة :

(١) إضافة مصدر للنيتروجين :

تتوقف النسبة المضافة من النيتروجين والمصدر المستخدم تبعا لنوع المولاس المستخدم والسلالة المستخدمة من الفطر وطريقة التنمية. ولقد وجد في مصر أن تدعيم مولاس القصب المصري المستخدم في إنتاج حمض الستريك مستخدما سلالة *Aspergillus niger* ، بواسطة ١ جم نترات أمونيوم / لتر ، أعطي أقصى إنتاج.

(٢) إضافة فوسفات:

يلعب الفوسفور دور فعال في إنتاج حمض الستريك ، فقد وجد أن إضافته بنسبة ١٠و-٠٢و % (فوسفات بوتاسيوم احادي) إلى مولاس البنجر المحتوى على ٥٠-٥٥% سكر يؤدي إلى الحصول على أقصى إنتاج ، بينما إذا ارتفعت النسبة إلى ١ و % يحدث انخفاض في الإنتاج.

معالجة المولاس

(١) إضافة سيانيد الحديد إلى المولاس :

تعتمد الكمية المستخدمة منه على نوع المولاس المستخدم وتركيبه، ويؤدي إضافته إلى المولاس إلى تحسين الإنتاج من حمض الستريك ، وذلك راجع لعدة أسباب، أهمها إنه يؤدي إلى ترسيب ١٨ معدن من ٢١ معدن الموجودة في المولاس وخاصة المعادن التي تتداخل في الإنتاج ولها تأثير مثبط وخاصة الحديد والمنجنيز.

(٢) إزالة الكالسيوم من المولاس :

وجد من الأبحاث أن التخلص من الكالسيوم الموجود في المولاس يؤدي إلى زيادة كفاءة الإنتاج ، إذ أن وجود الكالسيوم في المولاس يؤخر من كفاءة *Asp. niger* في إنتاج حمض الستريك ، وعند ترسيبه بواسطة اكسالات الأمونيوم ادى إلى زيادة الإنتاج.

(٣) تخفيف المولاس :

تختلف الدرجة المستخدمة في التخفيف تبعا لنوع القوة المنظمة لحموضة المولاس وطريقة التنمية المستخدمة ، فقد وجد من الأبحاث في مصر أن تخفيف المولاس إلى ١٥ % سكر كان أكثر ملائمة للإنتاج.

(٣) إضافة الكحولات :

من الأبحاث التي أجريت على إنتاج حمض الستريك ، وجد أن إضافة الكحولات والإسترات لبيئة التخمير يؤدي إلى زيادة الإنتاج ، كما تبين من نتائج الأبحاث المختلفة أن إضافة الايثانول أو الميثانول (١-٣%) يوقف التأثير المثبط للمعادن مثل المنجنيز والحديد والزنك كما يحد من تكون حامض الاكساليك.

الطرق المستخدمة في تنمية الفطر لإنتاج حمض الستريك:

١- الطريقة السطحية	Surface method
٢- الطريقة المغمورة	Submerged method

الطريقة السطحية : Surface method

يستخدم في هذه الطريقة *A.niger* مع مراعاة الشروط الواجب توافرها في عملية التخمير السابقة الذكر، سواء من نوع الميكروب - درجة الحرارة - نوع السكر - المعادن وغيرها من العوامل التي تؤثر على عملية التخمير ، وفي هذه الطريقة تستخدم صواني غير عميقة. ومن أهم العوامل التي تؤثر على كفاءة الإنتاج في هذه الطريقة ما يلي :

مساحة السطح / الحجم ، حيث أن إنتاج حمض الستريك عن طريق التخمير ، يتم عن طريق تحول السكر إلى حامض ستريك بواسطة الإنزيمات الداخلية الموجـــودة في الخلايا الحية ، فيحدث انتشار للسكر داخل الخلايا ويخرج بالتـــالي الحمـــض إلـــى الخارج (الخاصة الاسموزية) ، وعلى أساس معدل الانتشار هذا ، تتوقف السرعة التـــي تتم بها عملية التخمير. ففي حالة استخدام أواني عميقة تحتوي على حجم كبير ، فــــإن هذه الخاصية تتم ببطء حيث أن السطح المعرض من النمو لمكونات البيئة منخفـــض ، وبذلك عند استخدام صواني ضحلة فإن معدل التعرض من النمو للبيئة يكـــون مرتفـــع وبالتالي يرتفع ، معدل تحويل السكر إلى حمض ستريك ، هذا بالتالي يؤدي إلى إتمـــام التخمير في أقل وقت ممكن.

وتتم التهوية في هذه الطريقة بإمرار تيار من الهواء فوق النمو ، ويتم ضبط معدل التهوية تبعا لمساحة وحجم الصينية المستخدمة في الإنتاج، وتتم عملية التخمر في هـــذه الطريقة في ٧ -١٠ أيام ، وكفاءة الإنتاج عادة ٦٠% من وزن السكر المســـتخدم فـــي البيئة.

تحضير المزرعة :

تتم عن طريق النقل المتتالي للجراثيم من بيئة إلى أخـــرى (موحـــدة الـــتركيب) ، ويستخدم في أول مرحلة مزرعة نقية حيث تلقح الجراثيم في دورق ٢٥٠ سم^3 محتـــوى على ٧٥ سم^3 من البيئة المثلى (سكر ١٤%، pH) وتحضن على ٢٦م لمدة ١٠ يـــوم. تنقل الجراثيم الناتجة إلى دورق آخر أكبر حجما ثم تكرر هذه العملية كل ١٠ أيام لمـــدة ٨ أشهر تقريبا ،.ثم يستخدم هذا اللقاح لتلقيح صواني الإنتاج في المرحلة الأخيرة ، ونسبة التلقيح تصل إلى ٠,٢٥ - ٠,٥ المسطح ، وبذلك نحصل على أحسن النتـــائج. كما وجد أن استخدام نسبة أعلى من الجراثيم يؤدي إلى منع الجراثيم من الإنبـــات ، و هذا بالتالي يؤدي إلى تثبيط إنتاج حمض الستريك.

استخلاص حمض الستريك بعد التخمر *Recovery of citric acid*

بعد نهاية مرحلة التخمير يضغط الميسليوم لفصل الحمض المتكون، ويرسب الحمـــض في صورة ملح كالسيوم بواسطة الجير الحي Lime ، ويغسل الراسب ويعامل بحمـــض الكبريتيك لإزالة الكالسيوم على هيئة كبريتات عديمة الذوبان ، والمحلول المخفف الناتج لحامض الستريك يمرر خلال عمود من حبيبات الكربون. المحلول المتبقي الناتج بعـــد ذلك يركز تحت تفريغ حتى نحصل على بللورات حمض الستريك ، أو قد يجري علـــى المستخلص معاملة بالمذيبات العضوية.

إنتاج حمض الخليك بواسطة التخمر VINEGAR

ينتج حمض الخليك (الخل) عن طريق التخمر بواسطة بكتريا حمض الخليك التابعة لجنس *Acetobacter* ، التي تستمد الطاقة اللازمة لها عـــن طريـــق أكســـدة كحـــول الايثانول (الناتج عن تخمر السكريات بواسطة الخميرة) إلى حمض الخليك

العوامل المؤثرة على الإنتاج

١ – انتخاب الميكروب الملائم :

بالرغم من تعدد أنواع البكتريا وغيرها من الكائنات الحية الدقيقة التي لها قدرتـــها على إنتاج حمض الخليك من مواد خام مختلفة ، إلا أن أعداد قليلة نسبيا هي التي تعتبر ملائمة لإنتاج الخل وذات كفاءة إنتاجية عالية وجودة عالية على نطاق تجاري.

فتستخدم *Acetobacter schuetzenbachii* أو *A.curvum* لإنتاج حمض الخليـــك من كحول الإيثايل في الطريقة السريعة للإنتاج ، بينما A.orleanense تستخدم سواء في الطريقة السريعة أو البطيئة.

٢– طبيعة المادة الخام :

ينتج الخل من المواد الخام الملائمة لإنتاج الكحول ، وهذه سبق ذكرها في إنتـــاج الكحول ، وتتوقف درجة جودة الناتج ومواصفاته على نوع المادة الخام وتركيبها.

٣– الخمائر المستخدمة في التخمر :

قبل بدأ خطوة التخمر الخليكي لابد من تحويل السكر الموجود في محلول التخمـــير إلى كحول بواسطة الخميرة. وتتوقف السلالة المستخدمة من الخميرة على طبيعة المادة الخام المستخدمة ونوع السكر الذي يدخل في تركيبها ، ومن أكثر السلالات اســـتخداما *Saccharomyces cerevisae var. ellipsoideus* ، ودرجة الحرارة الملائمة للتخمـــير ٢٤–٢٧°م ، وتتم هذه الخطوات في ظروف لاهوائية ، وبعد تمام خطـــوات التخمـــير وتحويل كل السكر إلى كحول يترك المحلول مدة (٢–٣ أسبوع) حتـــى يتـــم ترســـيب الخلايا وجميع المواد القابلة للترسيب ويصبح المحلول رائقا. يضبط تركيز الكحـــول – ثم يجري عملية التحميض للكحول بإضافة خل نقي.

٤– تركيز الكحول :

ويضبـــط تركـــيز الكحـــول فـــي المـــدى الملائـــم للتخمــــير ويــــتراوح (١٠–١٣ %) ، فعند استخدام تركيز أعلى من ذلك فإن الكحول لا يتحول كلـــه إلـــى حمض خليك.

كما أن استخدام تركيز منخفض من الكحول ، يؤدي إلى انخفاض فـــي إنتـــاج

الخل ، بالإضافة إلى أن الخل يتعرض لعمليات أكسدة إلى ثاني أكسيد كربون ، وماء

٥- إضافة الحمض :

بعد تمام التخمر الكحولي وتحويل كل السكريات إلى كحول ، يضاف خـــل قــوي بنسبة ١٠-٢٥% من الحجم لغرض جعل الظروف غير ملائمة للبكتريا غير الملائمــة، وفي نفس الوقت تعتبر بادىء لعملية التخمــر الخليكــي ، وتضبــط الحموضـــة إلـــى ٣,٠٠-٣,٥% مع مراعاة عدم إضافة الحمض قبل انتهاء عملية التخمر الكحولي ،حتى لا يتسبب في إيقافها وبالتالي انخفاض إنتاج حمض الخليك.

٦- التهوية :

حيث أن تحويل الكحول إلى حمض خليك عبارة عن عملية أكسدة يقوم فيها أكسجين الهواء كمستقبل للايدروجين ، لذلك يتوقف نجاح هذه الخطوة في التخمـــر علـــى كميـــة الأكسجين المتوفرة في الإنتاج ، وتوضح المعادلة الآتية الأكسجين اللازم للأكسدة:

$$CH_3 - CH_2OH + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow CH_3 - CHO + H_2O$$

كحول ايثايل   إسيتالدهيد

$$CH_3 - CHO + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow CH_3 - COOH$$

إسيتالدهيد   حامض خليك

٧- درجة الحرارة :

تتوقف درجة الحرارة الملائمة على نوع السلالة المستخدمة والطريقة المســتخدمة في الإنتاج. واستخدام درجة حرارة مرتفعة عن اللازم ، تــؤدي إلـــى تبخــر الكحــول وحمض الخليك والمواد الخام الطيارة المكونة لنكهة الخل الناتج ، وعموما فـــإن أنســـب درجة حرارة هي ٢٧-٣٠ م

٨- التخزين والتعتيق :

قبل عملية التخزين يجب التأكد أن الكحول تأكسد كله إلى حمض خليك، بعد ذلـــك يجب وقف نشاط إنزيمات بكتريا حمض الخليك ، حتى لا يحدث أكسدة للخـــل النـــاتج ، ويتم ذلك عن طريق التخلص من جميع الأكسجين الموجود بملأ التنكات أو البراميل إلـــى

آخرها ثم لحمها لمنع أي تسرب للهواء داخل البراميل.

بعد ذلك تترك البراميل لتتم عملية التعتيق بها ، وهي العملية التي يحدث فيها تحسن للنكهة عن طريق تكوين استرات وأحماض طيارة مختلفة ، ويحـــدث ترويــق للخــل ، وتستغرق هذه المرحلة سنة أو أكثر.

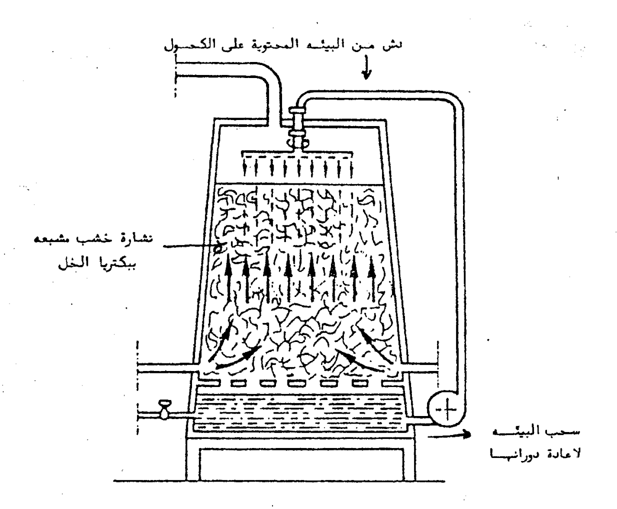
بعد ذلك تجرى عملية ترويق على الناتج المعتق ، ثم يعبأ في عبوات ويبســـترعلى درجة٦٠- ٦٦ م لمدة٣٠ دقيقة.

طرق الإنتاج

١- الطريقة السطحية في الإنتاج : Surface process

بالرغم من نجاح استخدام طريقة المزرعة المغمورة في إنتاج حمض الخليــك ، إلا أن استخدام طريقة مولد الخل Trickling generator (شكل ٥-١) مـــازالت مســتخدمة على نطاق واسع في إنتاج الخل ، ويبلغ حجم المخمر الخشـــبي٦٠م^3 ، ويمـــلأ بنشـــارة خشب ، ويتم رش المادة الخام التي تسيل من خلال النشارة المحتوية على البكتريا إلـــى الحوض الموجود بالقاع ، والذي يتم فيه تبريد المحلول المحول جزئيا ، ويتم ضخه مــرة ثانية إلى أعلى وهكذا.

ويتم تحويل ٨٨-٩٠% من الكحول المضاف إلى حامض خليك في هذا المخمـــر ، والكحول المتبقي إما يفقد في الهواء أو يستخدم في عمليات التمثيـــل الأوليـــة. ودرجـــة الحرارة تكون عادة ٢٩ م في الجزء العلوي من المخمر و٣٥ م في الجزء الســـفلي ، وتحتاج هذه الطريقة ٣ أيام لإنتاج حامض خليك تركيزه ١٢%.



شكل ٥-١ مولد الخل

٢- الطريقة المغمورة : Submerged process

ويتم فيها تحويل عصائر الفاكهة المتخمرة أو أي بيئه أخرى تحتوي نسبة منخفضة من الكحول بواسطة الطريقة المغمورة ، إلى حامض خليك ١٣% عن طريق التحكم في عملية التهوية.

ويتركب المخمر (شكل ٥-٢) من تنك من الحديد غير قابل للصدأ ويتم تقليب البيئة من أسفل ، أما عملية التهوية فتتم عن طريق دفع الهواء من أعلى من خلال مضخات ، ويتم التحكم في درجة الحرارة ميكانيكيا.

الاستخلاص : RECOVERY

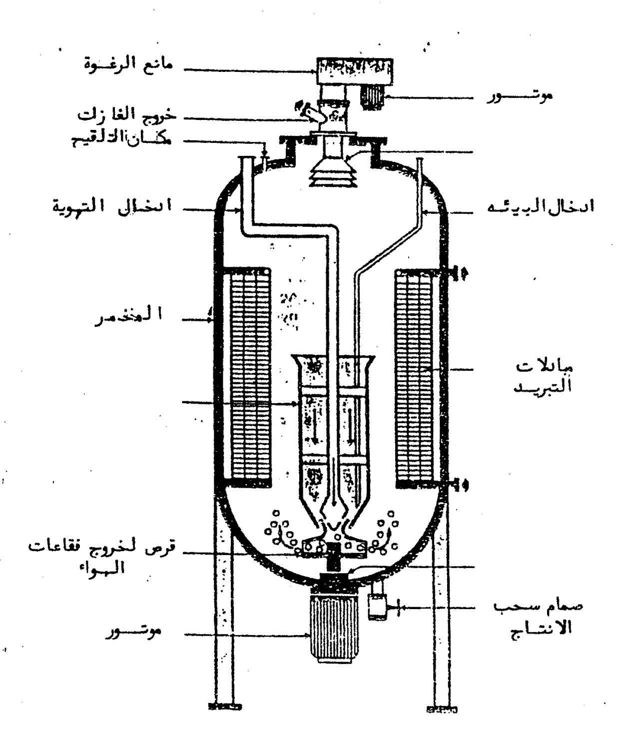
حمض الخليك المتحصل عليه بالطريقة المغمورة يكون به عكارة نتيجة وجود البكتريا في المنتج النهائي ، ولذلك يجب تنقيته بالترشيح باستخدام المرشحات Plate filters ، وبعد الترشيح يجب معاملة المنتج معاملات خاصة لإزالة اللون.

إنتاج نمو ميكروبي
Production of Biomass

تنمى خلايا الأحياء الدقيقة في المخمر لغرض إكثارها والحصول في نهاية مرحلة التخمير على محصول كبير من الخلايا Biomass ، ويشترط في هذا الإنتاج كغيره ، أن تهيأ الظروف لتشجيع الخلايا للنمو وزيادة معدل التكاثر لها ، أو بمعنى آخر خفض وقت التضاعف للخلايا ، وتختلف ظروف الإنتاج باختلاف نوع الكائن الحي الدقيق المستخدم والغرض من إنتاجه.

وتنمى الميكروبات المختلفة سواء فطر أو خميرة أو بكتريا لهذا الإنتاج لعدة أغراض كما يلي :

(١) إنتاج بادئات مختلفة تستخدم في صناعات أخرى مثل الصناعات التخميريه والصناعات الكحولية.. وغيرها.
(٢) إنتاج خميرة الخباز (المضغوطة - الجافة النشطة) لتخمير الخبز.
(٣) استخدام الخلايا الناتجة كمصدر للبروتين الميكروبي (SCP).
(٤) استخدام الخلايا الناتجة كمصدر للدهون الميكروبي (SCO).
(٥) استخلاص مكونات معينة من الخلايا الناتجة تستخدم في أغراض أخرى مثل الفيتامينات-الأحماض النووية-الأحماض الأمينية..وغيرها من المكونات.



شكل ٥-٢ مخمر المزرعة المغمورة

(أ) إنتاج خميرة الخباز
Production of baker's yeast

استخدمت الخميرة من مئات السنين في صناعات الخبز والمشـــروبات الكحوليـــة ، ولكن لم يبدأ إنتاجها على نطاق تجاري قبل سنة ١٨٥٠ لاستخدامها في صناعة الخــبز ، وحتى هذا الوقت كانت تستخدم العجينة المتخمرة لتلقيح العجينة الجديدة.

ثم استعملت الخميرة بعد ذلك في القرن التاسع عشر في صناعة الخـــبز. وأول مـــا استخدمت كانت تنتج كمنتج ثانوي من صناعة البيرة والتقطير ، ولم يكن لخميرة البـــيرة قيمة كبيرة في هذا المجال نظرا لامتصاص بعض المواد على خلايا الخميرة وإعطاءهـــا طعم مر للخبز.

ثم اجرى كثير من الأبحاث لإنتاج الخميرة كمنتج أساسي ، وأول ما أنتجت اســتخدم مستخلص الحبوب والمولت وخميرة قمة (سطحية النمو) ، وأطلق على ذلك طريقة فينـــا (Vienna process) .

ثم حدث تطور بعد ذلك أثناء الحرب العالمية الأولى ، واســـتخدم فـــي هـــذا الوقـــت المولاس بدلا من الحبوب مما سبب تطور هائل في الإنتاج.

وتوالت بعد ذلك الأبحاث حتى الأن في التطوير البناء للصناعة.

(١) المواد الغذائية اللازم توافرها في بيئة النمو :

مصدر الكربون :

هناك العديد من المواد الخام التي يمكن أن تستخدم كمصدر للكربون مثل المـــولاس، مخلفات صناعة الورق ، الحبوب ونواتج تحلل الخشب. ويتوقف اختيار المادة الخام طبقا لتوفرها في البلد وانخفاض ثمنها ، وبالنسبة لمصر يستخدم مولاس سكر القصب ، حيـــث يحتوي على أكثر من ٥٠ % سكر ذائب أغلبه سكروز ، كما يحتوي علـــى نســـبه مـــن المواد الغذائية مثل مصادر النتروجين والفوسفات والعناصر المعدنية بنسب مختلفة.

معاملة المولاس : Molasses treatment

نظرا لاحتواء المولاس على مواد غروية في صورة معلقة قد تدمص على خلايـــــا الخميرة أثناء الإنتاج مكتسبة إياها اللون الكريمى ، كما قد تؤدي أيضا إلى زيادة ظـــاهرة تكوين الرغوة أثناء الإنتاج ، مما يؤدي إلى زيادة نسبة استخدام المواد المانعـــة لتكويـــن الرغوة ، لذلك يجب إجراء ترويق للمولاس بإحدى الطرق الآتية :

(١) الترويق الكيماوي : Chemical clarification

بواسطة إضافة مـــواد تشـــجع عمليـــة الترســـيب مثـــل فوســـفات الكالســـيوم أو الألومنيوم .

(٢) الطرد المركزي.
(٣) بواسطة إضافة حمض الكبرتيك وخفض الـ pH إلى ٣,٥ - ٣، ثم الغليان لمدة ساعة في حمام مائي وتركة ١٢ ساعة لتتم عملية الترويق.

مصدر النيتروجين :

نظرا لأن كمية النتروجين الموجود بالمولاس قليلة لا تكفي النمو الغزير المطلوب لإنتاج خلايا خميرة بكميات ضخمة ، لهذا يضاف للمولاس بعد ترويقه مصادر للنتروجين بكميات كافية في صورة أملاح أمونيوم أو يوريا

مصدر الفوسفور :

وهو أساسي في تغذية الخميرة ، ويضاف في صورة فوسفات ثنائي الأمونيوم – فوسفات ثنائي الصوديوم – فوسفات كالسيوم – حمض فوسفوريك أو غيرها من المركبات ، ويجب أن تكون تلك المركبات نقية بقدر الإمكان.

الفيتامينات :

تحتاج الخميرة إلى فيتامينات معينة حتى تصل إلى أقصى إنتاج لها، وتحتاج الخميرة إلى ٠,٢٩ جزء في المليون بيوتين – ٥٠ جزء في المليون بنتوثينات Pantothenate – ١٢٠٠ جزء في المليون إينوسيتول.

(٢) السلالة المستخدمة في الإنتاج :

يستخدم في هذه الصناعة سلالة من *Saccharomyces cerevisiae* من النوع القمي (السطحي النمو) ويجب أن يتوفر في السلالة المنتخبة لهذه الصناعة قوه ثبات عالية وكفاءة تخميرية مرتفعة ، حتى تسبب تخمرا جيدا للعجين كما يجب أن تكون لها قدرة عالية على الانتشار في الماء ، وهذا بالطبع علاوة على قدرتها العالية على النمو واستخدام مكونات البيئة.

خطوات الصناعة :

(١) إنتاج اللقاح : Seed yeast

ينتج معمليا من السلالة المنتخبة السابقة الذكر ، وخطوات إنتاجها الأولى تتم في المعمل تحت شروط تعقيم جيدة ، لضمان عدم حدوث تلوث أثناء عمليات التلقيح المتتالية، ويتم إنتاجها كما يلي :

١- يجرى أول تلقيح من المزرعة النقية المنتخبة في ٢٥مل بيئة مستخلص مولت ٥% ، pH ٤,٥ في دورق سعة ٥٠ مل ويحضن لمدة ٢٤ ساعة على درجة ٣٠ °م.

٢- تنقل محتويات الدورق السابق مع مراعاة ظروف التعقيم إلى دورق آخر يحتوي على ٥٠ مل (مولاس : مولت بنسبة ١:١) بتركيز ٥% بنفس الظروف السابقة.

٣- تنقل محتويات الدورق السابق بعد استبعاد السائل الرائق العلوي تحت شروط تعقيم ، ثم ينقل الراسب من الخلايا إلى دورق آخر ٢٥٠مل يحتوي على ١٠٠مل من نفس البيئة وتحت نفس الظروف. مراحل النمو الثلاثة السابقة تتم تحت ظروف لا يحدث فيها تهوية لتلافي حدوث تلوث.

٤- بعد ذلك تنقل محتويات الدورق السابقة من الخلايا أيضا بعد إجراء الترويق decantation إلى دورق سعة ٥٠٠ مل يحتوي على ٢٠٠ مل من نفس البيئة السابقة،مع وجود تهوية بسيطة من هواء معقم وتستمر هذه المرحلة لمدة ١٢ ساعة فقط.

تنقل بعد ذلك عملية التلقيح من المعمل إلى المصنع في التانك الخاص بـالخميرة الأم الكبيرة ، التي تستخدم بعد ذلك في الإنتاج النهائي في المخمر.

وتختلف طرق التغذية في المخمر كما يلي:

أ- طريقة مخمر الدفعة Batch Method

ويتبع فيها إحدى الطرق الآتية:

(١) في هذه الطريقة تضاف كل كمية المولاس المستخدمة في بداية العملية مع إضافة مصدر النتروجين والفوسفور والخميرة البادىء ، وفي هذه الطريقة تصل كفاءة الإنتاج إلى حوالي ٢٨% بعد ١٢ ساعة تنمية على أساس كمية المولاس المستعملة ، ويلاحظ في هذه الطريقة انخفاض الناتج وذلك لأن وجود كمية السكر بكمية كبيرة في أول عملية الإنتاج يشجع الخلايا إلى الإتجاه إلى عملية التخمير بدلا من النمو.

(٢) الطريقة الثانية تقسم كمية التغذية إلى ١٢ جزء متساوي يضاف كل جزء دفعة واحدة في أول كل ساعة ، ويصل الإنتاج بهذه الطريقة إلى ٥٤% على أساس كمية المولاس المستعملة.

(٣) هذه الطريقة مماثلة للسابقة ، ولكن تختلف عنها في أن كل الكمية تضاف باستمرار خلال الساعة وليس دفعة واحدة ، وبذلك تقلل من احتمالات حدوث تخمير، ويصل الإنتاج بهذه الطريقة إلى ٧٦% على أساس كمية المولاس المستعملة.

(٤) وفي هذه الطريقة تضاف المواد الغذائية بمعدل مواز لمعدل زيادة الخلايا أو بمعدل النمو للخلايا ، وبذلك تختلف كمية كل ساعة عن ساعة التي قبلها وتزيد

بمعدل زيادة الخلايا الناتجة الجديدة ، وبذلك لا تكون هناك أي فرصة لحدوث أي تخمير للسكر حيث يستهلك كله في تنمية الخميرة. ويطلق على هذه الطريقة التغذية المتزايدة Incrimental feeding ويرتفع فيها الإنتاج إلى ١٠٥ % على أساس كمية

المولاس المستخدمة ومدة التنمية التي تصل إلى ١٢ساعة ، ويخفض معدل التهوية في الساعة الأخيرة كما يوقف التغذية ، وذلك لإعطاء فرصة لنضج الخلايا ، والخميرة الناتجة بعد ذلك تطرد مركزياً ثم تكبس وتعبأ.

ب- الطريقة المستمرة Continuous Feeding

تضاف الخميرة النشطة للمخمر وتضاف البيئة بمعدل يتمشى مع معدل نمو خلايا الخميرة واحتياجاتها الغذائية ، وتستمر عملية الإضافة والسحب بمعدل ثابت مع مراعاة المحافظة على تركيز معين من الخلايا عن طريق خلية ضوئية خاصة بالجهاز ، وتستمر هذه العملية لمدة ٢٤ساعة. وتؤدى الطريقة إلى ارتفاع نسبة الإنتاج مع احتمال انخفاض في درجة الجودة ، نظراً لطول مدة النمو مما يتيح الفرصة للتلوث واحتمال حدوث طفرات في الخلايا.

التهويـــة:

بصرف النظر عن طريقة الإنتاج فإن التهوية ذات أهمية قصوى لإنتاج الخميرة .

وفائدة التهوية هي :

١- إمداد الخلايا بالأكسجين وبالتالي اتجاهها للنمو بدلاً من التخمير.
٢- إزالة CO_2 من بيئة النمو ذو التأثير المثبط على نمو الخميرة .
٣- المحافظة على الخلايا في صورة معلقة بالبيئة .

العوامل المؤثرة على الإنتاج ودرجة جودته :

(١) تركيز السكر :

من أهم العوامل التي تؤثر على كفاءة الإنتاج وجودته ، وقد سبق أن أوضحنا تأثيره في البيئة فقد وجد إنه كلما انخفض تركيز السكر كلما زاد معدل إنتاج الخلايا ، والتركيز المعتاد استخدامه هو ٠٥ ,- ١,٥ % . وكما سبق أن ذكرنا فإن زيادة السكر يؤدي إلى تحول الخلايا الى التخمير بدلاً من إنتاج خلايا جديدة مما يقلل الإنتاج ، ولهذا يجب أن يضاف السكر بنسبه قليلة مستمرة تكفي احتياجات النمو ، فقد وجد أن ارتفاع تركيز السكر عن ٥% مع وجود الأكسجين يؤدي أيضاً إلى حدوث تخمر وإنتاج كحول.

(٢) درجة الحرارة :

تختلف درجة الحرارة المثلى لنمو الخميرة من سلالة إلى أخرى ، كمـــا أن لعـــامل الحرارة تأثيرات كثيرة تؤثر على معدل النمو وكفاءة الإنتاج ودرجة جودته.

ودرجة الحرارة المستخدمة في المراحل الأولى للإنتاج تتراوح من ٢٥-٢٦°م ، ثـــم يسمح لها بالارتفاع إلى ٣٠°م في المراحل النهائية للإنتاج. ويراعي المحافظة على هـــذه الدرجة طوال مدة الإنتاج.

(٣) درجة الحموضة (pH) :

يراعي استخدام pH منخفض (٣,٥-٤,٠) في مراحل النمو الأولى ثم يرتفع بعد ذلك في المراحل النهائية إلى (٥-٦) ، والغرض من ذلك هو المحافظة على عــــدم حـــدوث تلوث في المراحل الأولى ، لأن الحموضة المرتفعة غير ملائمة لحدوث تلوث بالبكتريـــا، كما أن الغرض من خفض الحموضة في المرحلة النهائية هو تخفيض ادمصاص المـــواد الملونة الموجودة بالمولاس على سطح الخلايا مما يؤدي إلى منتج ذو لون غامق غـــير مقبول لدي الخبازين.

(٤) عوامل النمو : Growth factors

وجد من الأبحاث أن الخميرة تحتاج بجانب السكريات القابلـــة للتخمـــير والكميـــات اللازمة من المعادن والأملاح في البيئة المغذية لها ، إلى كميات محسوسة من المركبـــات العضوية يطلق عليها عوامل النمو.

وأجري عديد من الدراسات على تأثير هذه العوامل على نمو الخميرة وجودتها. وهــــذه العوامل اللازمة للنمو من الصعب دراستها ، نظراً لاختلاف إحتياجات السلالات المختلفة لها ، بالإضافة إلى أن لبعضها القدرة على الأقلمة للنمو في عدم وجودها. والبعـــض لـــه القدرة على تكوينها بنفسه. ولعل من أهم عوامل النمو التي تحتاجـــها الخمـــيرة ويجـــب إضافتها للبيئة في حالة خلوها منها ، هـــي بعـــض الفيتامينـــات مثـــل البيوتيـــن Biotin والبنتوثينات Pantothenate والإينوسيتول inositol .

فصل الخميرة وإعدادها للاستخدام

بصرف النظر عن طريقة الإنتاج ، فإن الخميرة الناتجة بعد إنتهاء عملية الإنتاج يتم فصلها عن سائل التخمر بالطرد المركزي ، ثم يتم إعدادها للتوزيع في صورة مختلفة مع المحافظة على حيويتها ونشاطها في تخمير العجين.

فيتم إنتاجها في صورة خميرة مضغوطة Compressed yeast ، حيث يتم ضغطـــها في مكعبات بأحجام مختلفة وتوزع وتحفظ مبردة حيث تحتفظ بحيويتها لعدة أيام. أو تنتـــج في صورة خميرة جافة حيث يتم تجفيفها على سيور خاصة متحركة على درجة حـــرارة

منخفضة (٢٥-٤٥ْم) لعدة ساعات مع احتفاظها بحيويتها ، وهذا المنتج يعبأ في عبـوات محكمة تحت تفريغ ويمكنه الاحتفاظ بحيويته لمدة تزيد عن سنه كاملة .

ب – إنتاج البروتين الميكروبي
PRODUCTTON OF SINCLE CELL PROTEIN (SCP)

من المشاكل التي تواجه العالم هذه السنين ، وجود الفجوة الكبيرة بين معدل زيـــادة التعداد السكاني والزيادة في الإنتاج الغذائي. ومن المقدر أن يصل التعداد العالمي في عام ٢٠٠٠ ، أكثر من ٦ بليون. ومن أهم المشاكل التي تواجه هذا التعــداد المــتزايد مــن السكان هو الحصول على المصدر البروتيني في التغذية.

والمصادر التقليدية للبروتين إما أن يكون مصدر نباتي – مصدر حيوانـــي أو مــن الأحياء المائية مثل الأسماك ، والإنتاج من هذه المصادر يحتاج إلى مســاحات شاسـعة للزراعة وأراضي خصبة ومراقبة جيدة من حيث الآفــات والحشــرات التــي تصيــب المحاصيل – مع طرق محسنة للتخزين والحفظ وغيرها من العوامل الحيوية.

وقد قدرت الاحتياجات اللازمة من البروتين عن طريق FAO / WHO ســنة ١٩٦٥ وتراوحت بين ٢,٣ جم لكل كيلو جرام من وزن الجسم للأطفال الصغــار و ٠,٧ جــم / كجم للبالغين يومياً .

وفي البلاد النامية تكون احتياجات البروتين معتمدة في الدرجة الأولى على الأغذيــة النباتية ، وفي أغلب الحالات يكون نوع واحد فقط من البروتين النباتي وخاصة الحبـوب لإنها متيسرة. وقد تحدث نتيجة لهذه التغذية بعض أمراض سوء التغذية. ولقــد اتجــهت الأنظار إلى استخدام البروتين الميكروبي كبديل للبروتينات التقليديـــة كغــذاء للإنســان والحيوان ، وأطلق عليه اصطلاح SCP ويرجع الاتجاه لهذا النوع من البروتين للأسـباب الآتية :-

١- سرعة معدل نمو الميكروبات.
٢- ارتفاع كفاءتها في الاستفادة من المادة الخام وتحويلها إلى خلايا.
٣- قدرتها على الاستفادة مــن مــواد خــام رخيصــة متوفــرة (منتجــات ثانويــة أو مخلفات الصناعات المختلفة).
٤- إنتاجها لا يعتمــد علــى مســاحات ولا يتوقــف علــى الظــروف الجويــة مثــل المحاصيل النباتية.
٥- قد يكون استخدامها فــي التغذيــة مباشــراً أو غــير مباشــر بتغذيــة الحيوانــات عليــها ، ويضــم الميكروبــات التــي يمكــن اســتخدامها فــي إنتــاج الــبروتين أنواعاً تابعة للمجموعــات الميكروبيــة الرئيســية وهــي : البكتريــا – الخمــائر – الفطريات – والطحالب .

وبصفة عامة يكون نمو البكتريا أعلى من الخمائر ويليهما الطحــالب والفطريــات، وتحتوي الميكروبات على نسبة مرتفعة من البروتين تتراوح بين ٥٠ إلى أكثر من ٧٠% من الوزن الجاف لها.

وتختلف المواد الخام المستخدمة في الإنتاج ، تبعاً لنوع الميكروبات المستخدمة في الإنتاج وتبعاً لتوفر هذه المواد وانخفاض سعرها وسهولة استخدامها. وبالرغم من هذا فإن هذا النوع من البروتين المنتج يواجه عدداً من المشاكل ، مثل محتواها العالي من الأحماض النووية وقابليته المنخفضة للهضم.وتبلغ الكمية التي يمكن للإنسان أن يتناولها من الأحماض النووية يومياً إلى حوالي ٢جم ، وهذا المستوى يوجد عادة في٢٠-٣٠جم من الخميرة الجافة.

وهكذا فإن استخدام ٢٠-٣٠جم خميرة جافة تضاف لتغذية الطبقات الفقيرة ، يؤدي إلى رفع مستوى البروتين في غذائهم بمعدل ١٠ - ٢٠جم في اليوم ، وهو مستوى مناسب لعلاج مشاكل البروتين. وفي نفس الوقت فإن الأحماض النووية المرتفعة نسبياً في البروتين توجد حلول كثيرة لخفضها إلى مستويات قليلة جداً وبتكاليف معقولة.

البروتين الخمائري
YEAST PROTEIN

محاولة استخدام الخمائر كطعام لها تاريخ منذ الحرب العالمية الأولى وأيضاً خلال الحرب العالمية الثانية ، لتغذية الإنسان والحيوان Food and Feed Yeast .

والخمائر يمكنها بناء الأحماض الأمينية من مواد غير عضوية نيتروجينية ومركبات كبريتية مثل (أملاح الأمونيا والكبريتات) ، وتحصل على الطاقة من مصادر كربونية مختلفة من المنتجات الثانوية الزراعية أو الصناعية ، مثل نواتج صناعة السكر وصناعة النشا، وكذلك شرش اللبن ولب الفواكه ومخلفات صناعة الورق التي سبق ذكرها بالتفصيل.

يوضح الجدول التالي متوسط التركيب العام للخمائر المختلفة النامية على مواد خام مختلفة (جرام/ ١٠٠جرام وزن جاف)

المكون %	*S.cerevisiae* خميرة البيرة	*S.fragilis* النامية على الشرش	*Candida utilis* النامية على مخلف الورق	*S. cerevisiae* نامية على المولاس
البروتين	٤٥	٥٤	٥٥	٥٠
الليبيدات	٦	١	٥	٦
الرماد	٨	٩	٨	٧

ويفضل استخدام *Candida utilis* بكثرة لإنها تتميز بمعدل نمو سريع وقدرتها العالية على استخدام سكر البنتوز الموجود في مخلفات صناعة الورق ، كما إنها لا تحتاج إلى إضافات غذائية أخرى لتدعيم بيئة النمو.

تقييم البروتين الخمائري والبروتين الميكروبي عموماً

هناك عدة طرق لتقييم أي بروتين لمعرفة مدى صلاحيته في الاستخدام الغذائي منها ما يلي

١- **محتواه من الأحماض الأمينية** ، فيجب أن يحتوي البروتين على الأحماض الأمينية الأساسية ، وأي نقص في احد أو بعض هذه الأحماض ، يقلل من القيمة الغذائية لهذا البروتين بمقدار هذا النقص ما لم يتم استخدام بروتين من مصدر آخر مكمل له في الوجبات الغذائية المختلفة. وعادة ما يقارن أي بروتين ببروتين البيض أو الكازين بالنسبة لمحتواه من الأحماض الأمينية ، وعادة فإن البروتينات النباتية ينقصها بعض الأحماض الأمينية الأساسية ، ولكن أكل بروتينات نباتية مختلفة تعوض بعضها بعضاً في النقص ، وإلا فإن الأفراد الذين يعتمدون على مصدر واحد من الغذاء النباتي سوف يعانون من سوء التغذية. أما بالنسبة للبروتين الميكروبي فإن محتواه من أغلب الأحماض الأمينية الأساسية يفوق كثير من البروتينات النباتية ، وإن كان البروتين الميكروبي يوجد به نقص في الأحماض الأمينية الكبريتية (السستين - السستيئين - والمثيونين) مقارنة بالبروتينات القياسية ، ولكن هذا النقص يمكن تعويضة بطرق بسيطة غير مكلفة.

٢- **وجود مكونات ضارة** : البروتين الميكروبي يعاب عليه محتواه العالي من الأحماض النووية. والمعروف أن هناك حدود لمستوى الأحماض النووية في الغذاء ، وإلا يصاب الأفراد الحساسين بحصوات حامض اليوريك Uric acid أو ترسيب هذا الحامض في المفاصل ويسبب آلام المفاصل.

ويلاحظ أن هذه النسبة المرتفعة من الأحماض النووية تحد من استخدام البروتين الميكروبي كمصدر وحيد للبروتين. وباعتبار أن متوسط الأحماض النووية في البروتين الميكروبي تصل إلى ١٠% من البروتين، وأن أقصى كمية يمكن للإنسان أن يتعاطاها من الأحماض النووية تصل إلى ٣جم/ يوم ، لهذا فإن الهيئات الدولية تنصح بإن لا يتجاوز كمية البروتين الميكروبي في الغذاء ٢٠-٣٠جم يومياً ، وهذه الكمية كافية لو أضيفت للغذاء ، لمعالجة نقص البروتين في غذاء الطبقات الفقيرة دون إضرار من مستوى الأحماض النووية. ويلاحظ أن هناك تقنيات بسيطة يمكن بها التخلص من الأحماض النووية في هذا البروتين ، مما يعطيه قيمة كبيرة في

المستقبل في غذاء الإنسان. ويلاحظ أن ارتفاع نسبة الأحماض النووية ليس لـــها أي تأثير عند استخدام هذا البروتين في تغذية الحيوان ، حيث يستطيع الحيوان التخلــص من حامض اليوريك بسهولة وإفرازه مع البول.

٣- **القابلية للهضم** : المعروف أن جدر خلايا الميكروبات لا تهضم بســـهولة بواســطة الإنزيمات الهاضمة في الإنسان. لهذا فلابد من إجراء معـــاملات لتكســير خلايــا الميكروبات قبل استخدام هذه البروتين في الغذاء.

إنتاج البروتين الميكروبي من ميكروبات أخرى

شرحنا فيما سبق استخدام البروتين الخمائرى كمصدر للبروتين في التغذية ، وقـد تم الاهتمام بالخمائر أولاً لأن الخمائر يتعاطها الإنسان في غذائــه مــن قديــم الأزل بسلامة تامة.

وهناك العديد من الميكروبات الأخرى التي يمكن استخدامها كمصــدر للــبروتين الميكروبي ، منها أنواع من البكتريا مثل بكتريـــا الـــهيدروجين وبكتريــا الميثــان ، والبكتريا التي تستخدم الهيدروكاربونات (بقايا تكرير البترول).. الخ. كمـــا أن هنـــاك بعض الفطريات التي تصلح لإنتاج البروتين الميكروبي ، كما أن هناك آمال كبيرة فــي استخدام الطحالب لإنتاج البروتين الميكروبي.

(الموجز)

يمكن النظر إلى التخمرات الميكروبية بأنها الاستغلال الأمثل لقدرة الميكروبات لإنتاج مواد لها أهميتها الاقتصادية ، سواء في النواحي الزراعية أو الصناعية أو الصحية. وتقوم التخمرات الميكروبية على أساس قدرة الميكروبات على استخدام مواد خام رخيصة الثمن أو مخلفات، لتحولها إلى مواد ذات قيمة كبيرة ، وتعالج الآثار البيئية لهذه المخلفات فيما لو تركت بدون استغلال.

ويلاحظ أن استخدام الميكروبات في إحداث تغيرات مفيدة قديم قدم التاريخ حتى قبل أن يعرف الإنسان الميكروبات ، فقد لا حظ الإنسان أن عملية تخمر العجين تحسن من صفات الخبز ، واستخدم عجينه قديمة لتخمير الدورة التالية من العجين ، وبذلك يكون قد لقح العجين بالميكروبات دون أن يعرف. كما خمر الإنسان العصائر وانتج الخل من زمن بعيد.

ولا شك أن المعارف الإنسانية والتطور التكنولوجي أدى إلى قيام صناعات متطورة تلعب فيها الميكروبات الدور الأساسي. وتتم الصناعات التخميرية في عدة مستويات:-

أ- إنتاج مواد أولية للنشاط الميكروبي مثل الكحولات – الأحماض العضوية – الأحماض الأمينية – السكريات العديدة...الخ.

ب- إنتاج نواتج التمثيل الثانوية مثل : المبيدات الحيوية – منظمات النمو – المضادات الحيوية ...الخ.

جـ- إنتاج الإنزيمات التي يمكن استخدامها في تنشيط تفاعلات هامة ولها أهميتها الصناعية والغذائية والطبية.

د- إنتاج الخلايا الميكروبية أو مكوناتها:
١- إنتاج خلايا الخميرة لاستخدامها في تخمير الخبز.
٢- إنتاج البادئات اللازمة للصناعات التخميرية والغذائية مثل بادئات الزبادي واللقاحات الميكروبية.
٣- إنتاج الخلايا الميكروبية لاستخدامها كلقاحات ضد الأمراض المختلفة.
٤- إنتاج البروتين الميكروبي.
٥- إنتاج الدهن الميكروبي.

ويلاحظ أن نجاح الصناعات التخميرية يعتمد على أساسين ، هما أولاً انتخاب الســلالة الميكروبية ذات الكفاءة العالية في الإنتاج المطلوب ، وثانياً توفر المواد الخام اللازمــة في صورة مناسبة ورخيصة تتناسب مع اقتصاديات الصناعة.

﴿أسئلة﴾

١- يعتمد نجاح الصناعات التخميرية على عاملين أساسين ناقش ذلك.

٢- يعتبر مخلفات مصانع الأغذية في مصر من أهم المواد الخـــام الصالحـــة لاستخدامها في الصناعات التخميرية ، ناقش ذلك.

٣- أذكر فقط الاعتبارات الواجب مراعاتها عند إنتاج الكحول بالتخمر.

٤- ناقش العوامل المؤثرة على إنتاج حامض الستريك بالتخمر.

٥- ناقش الطريقة السطحية لإنتاج حامض الستريك بالتخمر.

٦- أذكر فقط العوامل المؤثرة على إنتاج حامض الخليك بالتخمر

٧- تكلم عن المواد الغذائية اللازم توفرها في بيئة النمو عنـــد تنميـــة خلايـــا الخميرة لاستخدامها في تخمير الخبز.

٨- ناقش العوامل المؤثرة على جودة خميرة الخبار المنتجة بالتخمر.

٩- تختلف كفاءة إنتاج الخميرة في مخمر الدفعة حسب الطريقة التي تتبع فـــي التغذية ، ناقش ذلك.

١٠- ما هي الأسباب التي أدت إلى الاتجاه لإنتاج البروتين الميكروبي لتغذيـــة الإنسان والحيوان.

١١- تكلم عن طرق تقييم البروتين الميكروبي.

﴿الباب السادس﴾
التكنولوجيا الحيوية والزراعة
Biotechnology and Agriculture

مقدمـــــة

تلعب التكنولوجيا الحيوية دوراً مميزاً فى حلّ كثير من المشاكل الخاصة بإنتاج مواد حيوية ، على درجة عالية من النقاوة والكفاءة ، وبكميات لم يكون الممكن إنتاجها مَن قبل .

وفى مجال الزراعة ، فإن كثيراً من الطرق قد سلكت ، والعديد من التقنيات قد طورت للاستفادة من أنشطة الكائنات المجهرية ، الموجودة بوفرة فى كل مكان حولنا ، لإنتاج مواد نافعة تفيد الاقتصاد وتخدم المجتمع الذى نعيش فيه . ومن الأمثلة البـــارزة فى هذا المجال ، إنتاج طاقة متجددة من الوقود الحيوي كبديل لمصادر الطاقة التقليدية، وإنتاج مواد المكافحة الحيوية لإنتاج محاصيل زراعية نظيفة ، وإنتاج لقاحات التســميد الحيوي للحد من استخدام الأسمدة المعدنية ، لتقليل تكلفة الإنتاج والمحافظة على البيئـة من التلوث .

إنتاج الوقود الحيوي Biofuel production

بدأ الاهتمام بإنتاج الغازات كوقود حيوي بواسطة الميكروبات منذ زمن بعيـد ، غير أن الإهتمام بذلك إزداد بعد حرب السويس عام ١٩٧٣ ، وماصادفه العـــالم مـــن أزمات فى مصادر الطاقة التقليدية . وبتقدم وسائل التقنية الحيوية ، فقد أصبح يوجـــد الآن آلاف الوحدات العاملة لانتاج الوقود الحيوى ، فى بلاد عديدة من العـــالم بأوربـــا وآسيا وأفريقيا .

ينتج الوقود الحيوى وهو غاز البيوجاز ، بواسطة الميكروبات أثنـــاء نشـــاطها وتحليلها للمواد العضوية ، والبيوجاز الناتج طاقة متجددة ، ويعتـــبر إحـــدى الوســـائل الهامة الممكن استخدامها كبديل لمصادر الطاقة التقليدية ، خاصة فى الأماكن الريفيـــة والمناطق النائية التى يصعب توفير البترول لها .

ويمكن استعمال جميع المخلفات العضويـــة فـــى إنتـــاج البيوجـــاز بواســـطة الميكروبات ، غير أن أفضل هذه المخلفات من حيث سرعة التخمير ، هـــى مخلفـــات المجارى ، يلى ذلك المخلفات الحيوانية ثم المخلفات النباتية ومخلفات المدن ، وتـــزداد عملية التخمر صعوبة ، وتأخذ وقتاً أطول ، كلمـــا زادت نســـبة اللجنيـــن بالمخلفـــات المستعملة .

نواتج التخمير

نتيجة لتخمر المواد العضوية بواسطة الميكروبات تحت الظروف اللاهوائية ، فإنه ينتج خليطاً من غاز الميثان CH_4 القابل للإشتعال (حوالى ٥٥% من كمية الغازات الناتجة) وثانى أكسيد الكربون CO_2 غير القابل للإشتعال (حوالى ٤٠%) ، بالإضافة إلى غازات أخرى مثل الايدروجين والنيتروجين وكبريتور الايدروجين وثانى أكسيد الكبريت والنشادر ، التى تكون فى مجموعها أقل من ٥% من كمية الغازات الناتجة . وبالإضافة الى تلك الغازات ، تنتج عدة أحماض عضوية ، يمثل حامض الخليك أعلى نسبة منها . وعموماً ، فإن نسبة الغازات الناتجة من المخمر تتوقف على الظروف المحيطة بالانتاج التى من بينها طبيعة المخلفات المضافة وحرارة ومدة عملية التخمر .

وغاز الميثان قابل للإشتعال ووجوده مع غاز CO_2 غير القابل للإشتعال يعتبر عاملاً هاماً لتعديل درجة اشتعاله . وتقارب كمية الحرارة الناتجة من حرق غاز الميثان (٨ آلاف كيلو كالورى/م٣) تلك الناتجة من حرق الغاز الطبيعى (١٠ آلاف كيلو كالورى/م٣) ، مما يوضح أهمية استعمال غاز الميثان كمصدر للطاقة .

الأهمية الإقتصادية والصحية لإنتاج البيوجاز

- يستعمل الغاز الناتج من التخمير كبديل لمصادر الطاقة التقليدية ، وذلك فى توليد الكهرباء والتدفئة والإنارة والطهى .
- تستعمل مخلفات تخمير المخلفات فى صناعة أعلاف غير تقليدية للحيوانات .
- تستعمل مخلفات التخمير الصلبة sludge المجففة كسماد عضوى للأراضى ، لما تحتويه من نيتروجين وفوسفور وبوتاس وعناصر نادرة .
- تستعمل مخلفات التخمير السائلة Effluent فى رى وتسميد المزروعات .
- يؤدى التخلص من المخلفات الآدمية والحيوانية لانتاج البيوجاز خاصة فى الروث ، الى رفع المستوى الصحى ، بالتخلص من التلوث الميكروبى والحد من إنتشار الحشرات الناقلة للأمراض كالذباب والبعوض .

إنتاج غاز الميثان Methanogenesis

تتم عملية تولد غاز الميثان بيولوجياً من المخلفات العضوية ، نتيجة لتعايش مجموعة كبيرة من الأحياء المجهرية التى تتعاقب فى عملها مع بعضها . وتبدأ الخطوات الأولى من تحلل المخلفات العضوية هوائياً ، ثم باستمرار عملية التحلل يقل الأكسجين فى وسط التخمير تدريجياً ، حتى تسود فى النهاية الظروف اللاهوائية ، التى تهيىء الوسط المناسب لإنتاج غاز الميثان .

ومن ذلك ، فإن عملية تحلل المواد العضوية ميكروبياً لإنتاج غاز الميثان ، تمر بالمراحل الرئيسية التالية التى توضح من المخطط التالى :

مواد عضوية
كربوهيدرات
بروتين
دهن
← ميكروبات هوائية واختيارية
مركبات وسطية
سكريات
أحماض أمينية
أحماض دهنية
جليسرول
← بكتريا لاهوائية منتجة للأحماض

نواتج بسيطة
أحماض عضوية قصيرة السلسلة
وكحولات بسيطة
وغازات مثل
CO_2, H_2
← بكتريا منتجة لغاز الميثان ظروف لاهوائية
نواتج نهائية
CH_4
CO_2

المرحلة الأولى : مرحلة تكوين المركبات الوسطية

فى هذه المرحلة تنشط الأحياء المجهرية الهوائية والاختيارية مثل أنواع تابعة لجنس باسلس *Bacillus* ، لتحليل المواد العضوية المعقدة الى مواد بسيطة ، وتكوين نواتج وسطية من سكريات وأحماض .

المرحلة الثانية : مرحلة تكوين الأحماض

فى هذه المرحلة تنشط البكتريا اللاهوائية المنتجة للأحماض ، الكروية مثل *Ruminococcus* ، والعصوية مثل *Bacteroides* و *Clostridium* ، لتحويل النواتج الوسطية إلى أحماض عضوية دهنية قصيرة السلسلة مثل الفورميك ، الخليك ، البروبيونيك ، البيوتريك ، وكحولات بسيطة مثل الميثانول ، الإيثانول ، البروبانول ، الأيسوبروبانول ، وغازات مثل H_2, CO_2 .

المرحلة الثالثة : مرحلة تكوين غاز الميثان

فى هذه المرحلة تقوم البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogenic bacteria ، بتحويل نواتج المرحلة الوسطية السابقة إلى ميثان .

وبصفة عامة ، فإن غاز الميثان ينتج من اختزال مجموعة الميثايل ، أو من اختزال CO_2 فى وجود مادة عضوية (مصدر الإيدروجين) ، كما يتضح من المعادلات الآتية :

$$CH_3 - COOH \longrightarrow CH_4 + CO_2$$
$$2CH_3 - CH_2OH \longrightarrow 3CH_4 + CO_2$$
$$CO_2 + 4H_2 \longrightarrow CH_4 + 2H_2O$$

البكتريا المنتجة لغاز الميثان Methanogenic bacteria, Methanogens

ينتج غاز الميثان بواسطة مجموعة متخصصة من البكتريا يطلق عليها البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، وهى وإن كانت ذات أشكال مورفولوجية مختلفة (كروية أو عصوية أو حلزونية ... الخ) ، إلا أنها كلها تتميز بأن لها صفات مزرعية وفسيولوجية متشابهة ، فهى لاهوائية حتماً ، وتحصل على طاقتها من نواتج التخمير الوسطية من أحماض وكحولات بسيطة بطريقة تؤدى الى تكوين غاز الميثان ، نتيجة لإختزال O_2 وأكسدة الإيدروجين ، وهى لا تستطيع أن تمثل السكريات البسيطة أو المعقدة كمصدر للكربون ، ولكنها تستخدم بدلاً من ذلك الأحماض الدهنية والكحولات البسيطة ذات السلاسل القصيرة ، التى تنتج من تخمر المواد العضوية بواسطة

الميكروبات الأخرى ، ويناسبها درجة ٣٠°م و pH ٧,٠ ، وتوجد في الأوساط اللاهوائية التى يتوفر بها شروط لاهوائية ومواد عضوية متحللة ، مثل الأراضى الغدقة، وقاع البرك والبحيرات ومعدة الحيوانات المجترة .

من هذه البكتريا أنواع كروية كما فى جنس .... *Methanococcus*
وأنواع عصوية غير متجرثمة كما فى جنس .... *Methanobacterium*
وأنواع عصوية متجرثمة كما فى فى جنس .... *Methanobacillus*
وأنواع حلزونية كما فى جنس .... *Methanospirillum*
ويلاحظ أن اسم الجنس يكون مسبوقا بكلمة Methano

عملية الإنتـــــاج

لإنتاج غاز البيوجاز ، تقام وحدة لإنتاجه قرب أماكن توفر المخلفات العضوية ومصدر الماء ، وقرب أماكن استخدام الغاز الناتج . وتتوقف طبيعة نظام الوحدة على ظروف المنطقة المحلية ، وما يتوفر بها من خامات البناء . عموماً تتكون وحدة الإنتاج (أنظر شكل ٦-١) من :-

- الهاضـــم Digester

ويبنى تحت سطح الأرض فى صورة حجرة أسمنتية اسطوانية ، وفيه توضع المخلفات وتتم عملية التخمير ميكروبيا لانتاج البيوجاز .

مخزن تجميع الغازات Gas holder

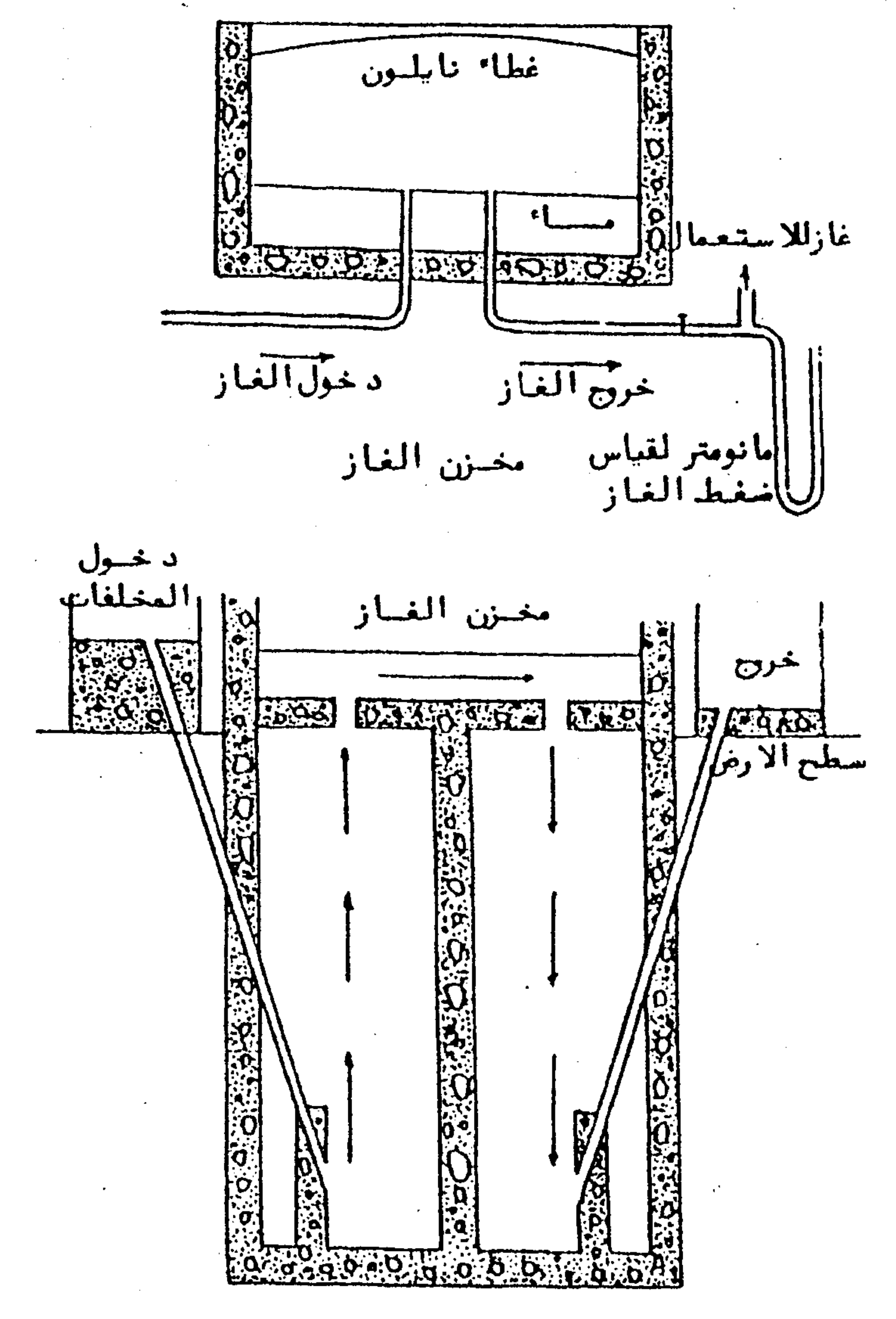
ويوجد فوق الهاضم ، وفيه تتجمع الغازات الناتجة من الهاضم ، ومنه يوجه الغاز إلى أماكن الإستعمال . قد يوجد مخزن تجميع الغازات فوق سطح الأرض كما فى النظام الهندى ، أو تحت سطح الأرض كما فى النظام الصينى .

- أحواض تجميع وخلط المخاليط .
- مجموعة من الأنابيب والوصلات

تشغيل الهاضـــم

عند بدء تشغيل الهاضم ، يملأ الهاضم بمخلوط من الماء والمخلفات ، ثم يتم

التوصيل بخزان الغاز ، مع مراعاة التخلص من الكميات الأولى من الغـــاز المتكــون لأنها تكون مختلطة بالهواء ، واشتعالها يسبب إنفجاراً ، لذلك يستعمل البيوجاز كوقــود عند خلوه من الهواء .



شكل (٦-١) مقطع فى الهاضم ومخزن تجميع الغازات

وللمحافظة على درجة حرارة الهاضم فى فترة الشتاء ، يستعمل الماء الدافىء فى عملية تخفيف المخلفات ، مع إمرار الغازات الناتجة من الهاضم فى ماء جير ثم فى مرشحات تحتوى على أكسيد حديديك ، للتخلص من جزء كبير من H_2S, CO_2 ، الناتجة أثناء التخمير ، والتى يسبب وجودها قلة كفاءة الإنتاج ، وتقليل درجة اشتعال الميثان وتآكل الأنابيب المعدنية المستعملة فى الوصلات .

العوامل المؤثرة على إنتاج البيوجاز

هناك مجموعة من العوامل التى تؤثر على إنتاج غاز البيوجاز بالهاضم ، هى فى مجموعها عبارة عن العوامل التى تؤثر على نشاط الميكروبات المنتجة لهذا الغاز.

ومن بين هذه العوامل

- **درجة الحرارة :** ويناسب الإنتاج درجة حرارة حوالى ٣٠°م.
- **درجة الحموضة :** ويناسب الإنتاج درجة تركيز أيون ايدروجينى حوالى ٧,٠ ، لذلك فقد يلزم إضافة الجير أثناء الانتاج لمعادلة الأحماض الناتجة أثناء التخمير .
- **تراكم الغازات :** يتصاعد أثناء الإنتاج غازات مثل SO_2, H_2S, NH_3, H_2 ، ويؤدى تراكمها بالمخمر إلى حدوث ضرر للميكروبات المنتجة ، ولإنتاج الغاز ، لذلك فإنه يجب العمل على التخلص من هذه الغازات بقدر الإمكان .

ومما يساعد على زيادة كفاءة الانتاج ، مراعاة التحميل المناسب للهاضم بالمخلفات ، مع تخفيف تلك المخلفات بالماء قبل بدء التشغيل بنسب تصل فى المتوسط الى ١ مخلفات : ٣ ماء ، مع التقليب المستمر أثناء التخمير ، وسيساعد ذلك على تكاثر الميكروبات المنتجة للغاز بالهاضم ، وتقليل لزوجة خليط المخلفات ، وتكسير الصموغ والرغاوى المتكونه به ، وتجانس توزيع الميكروبات المنتجة للميثان بالمخلفات الجارى تخميرها ، مما يؤدى لزيادة الإنتاج .

وتتوقف مدة التخمير على طبيعة المخلفات والظروف المحيطة بالإنتاج السابق ذكرها ، وقد تصل فى حالة مخلفات الحيوانات إلى حوالى أسبوعين ، ويعطى طن المخلفات منها حوالى ٠,٣ م٣ غاز .

الأسمدة العضوية Organic manures

تشمل الأسمدة العضوية المخلفات النباتية والحيوانية ومخلفات المجارى والمجازر وقمامة المدن ... الخ ، وترجع أهمية الأسمدة العضوية من سماد بلدى أو

صناعى أو غيرها من الأنواع ، إلى أنها تحتوى على مقادير متفاوتة من العناصر الأساسية لتغذية النبات ، مثل النيتروجين والفوسفور والبوتاسيوم علاوة على بعض العناصر الغذائية الأخرى الدقيقة ، وهذا بالإضافة إلى إحتوائها على المواد العضوية التى عندما تتحلل وتندمج فى التربة على صورة دبال ، فإنها تحسن من خواص التربة الفيزيائية من قوام وتماسك وإحتفاظ بالماء ، ومن خواص التربة الكيميائية بما تحتويه من عناصر غذائية وقدرة عالية على الارتباط بالقواعد وتنظيم للحموضة ، ومن خواص التربة البيولوجية لأنها تعتبر مهداً مناسباً لنمو ونشاط الأحياء الدقيقة التى تلعب دوراً هاماً فى خصوبة وإنتاجية الأراضى .

وتحتاج الرقعة الزراعية الحالية ، ومايستجد من أراضى استصلاح بمناطق التوسع الجديدة فى شمال وجنوب الوادى ، الى توفير مايلزم لها من أسمدة عضوية ، لرفع إنتاجية الأرض ، ولأنتاج محاصيل زراعية نظيفة .

ولأن مايتوفر الآن من أسمدة عضوية أقل بكثير مما يكفى لسد تلك الاحتياجات ، فإن العمل على إنتاج السماد العضوى الصناعى بتقنية جيدة وبكميات كبيرة ، بتخمير الفائض من البقايا النباتية كالتبن والقش والأحطاب ، يمكن أن يساهم فى تضييق تلك الفجوة بدرجة كبيرة .

السماد العضوى الصناعى ، سماد الكومبوست Compost

يُنتج السماد العضوى الصناعى من تخمير مخلفات قمامة المدن والفائض من البقايا النباتية كقش الأرز والتبن والعروش والأحطاب وغيرها . والسماد العضوى الصناعى أفضل من السماد البلدى فى القيمة السمادية ، من حيث مقدار مايحتويه من المادة العضوية والنيتروجين ، فيستطيع المزارع أن يستعمل متراً مكعباً من السماد العضوى الصناعى بدلاً من مترين مكعبين من السماد البلدى الجيد ، بالإضافة إلى أن الأسمدة العضوية الصناعية ليست لها رائحة كريهة كما هو الحال فى السماد البلدى .

وأساس التقنية الجيدة فى تخمير المخلفات ، يتركز فى توفير النيتروجين والفوسفور ، اللازمين لتغذية وتنشيط الكائنات الدقيقة التى تقوم بالتخمير لإسراع عملية التحلل ، كما يجب توفير وسطاً متعادلاً أو مائلاً للقلوية بإضافة كربونات جير ناعم ، والتقليب والدك الجيد للكومة أثناء التصنيع ، وتعديل رطوبة الوسط لحوالى ٧٠% بإضافة ماء إلى خليط المخلفات ، علماً بأن زيادة الرطوبة عن ٨٠% يؤدى إلى تكون وسطاً لاهوائياً يؤخر عملية التحلل ويؤدى الى تجمع مواد ضارة .

فى المراحل الأولى من تصنيع السماد العضوى ، تكون الميكروبات الهوائية ، من بكتريا وأكتينوميسيتات وفطر ، شديدة النشاط ، وتختفى المواد السليلوزية تدريجياً،

وتتحلل المواد الهميسليلوزية والدهنية، ونتيجة لذلك تتزايد نسبة اللجنين الصعب التحلل ، وتزداد نسبة البروتين لنمو البكتريا وتكاثرها ، كما يزداد الرماد . وفى أثناء عملية التخمر ترتفع درجة حرارة الكومة لتصل إلى حوالى ٦٥-٨٠°م ، وتخفض تلك الحرارة برش الكومة بالماء، ونجد أن الميكروبات المحبة للحرارة المرتفعة من بكتريا واستربتومايسيتات ، مثل *Clostridium thermocellum, Streptomyces thermophilus* ، تلعب دوراً هاماً فى تحليل السليلوز ، خاصة فى المراحل الأخيرة من عملية التخمر .

تصنيع السماد

عند عمل السماد العضوى الصناعى ، تختار مساحة من الأرض لعمل الكومة بجوار مورد ماء ، وتدك الأرضية جيداً ، ثم تضاف المخلفات فى طبقات (بأرتفاع حوالى ٥٠ سم) مع كمية المخلوط الكيماوى المناسبة (أنظر جدول ٣-١) ، والرش بالماء لكل طبقة والدك بالأقدام ، ويستمر فى عمل الطبقات حتى تصل الكومة للإرتفاع المناسب (حوالى ٥ متر) .

وبعد حوالى شهر ونصف من بناء الكومة ، تقلب الكومة جيداً ويعاد تكوينها مع الدك عليها بالأقدام ، وتكرر عملية التقليب والرش والدك مرة كل شهر ، إلى أن تنضج الكومة بعد حوالى ٣-٥ شهور حسب نسبة اللجنين بالمخلفات المضافة .

ويمكن اختصار مدة التخمير من خمسة شهور إلى أقل من شهرين ، بتقطيع المخلفات الجارى تصنيعها الى قطع صغيرة قبل إضافتها للكومة ، مع تلقيح الطبقات المكونه للكومة بالميكروبات المحللة للسليولوز والهميسليلوز .

جدول ٣-١ : أنواع مخلفات الحقل والمخلوط الكيماوى المستعمل

مادة مخلفات الحقل	الطن الواحد يحتاج من المخلوط الكيماوى إلى
قش : الأرز ، حشائـــــش خضـــراء ، ورق شجر ، ورق خضروات .	١٥ كجم سلفات نشادر + ٣ كجم سوبر فوسفات + ١٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تراب
قـــش : البرســـيم ، الحلبـــة ، الفـــول ، القمـــــح ، الشعير	٢٠ كجم سلفات نشادر + ٤ كجم سوبر فوسفات + ٢٠ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تراب
عروش : البطيخ ، البطاطا ، الطماطم ، الفاصوليا ، الفول السودانى ، القلقاس ، اللوبيا ، قش القصب	٢٥ كجم سلفات نشادر + ٥ كجم سوبر فوسفات + ٢٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تراب
حطب الذرة وسوق الموز	٣٠ كجم سلفات نشادر + ٦ كجم سوبر فوسفات + ٣٠ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تراب
بقايا تقليم الأشجار ، حطب القطن ، ساس الكتان ، مصاصة القصب	٣٥ كجم سلفات نشادر + ٧ كجم سوبر فوسفات + ٣٥ كجم كربونات جير ناعم + ١٠٠ كجم تراب

الأسمدة الحيوية Biofertilizers

تتزايد إحتياجاتنا من الأسمدة المعدنية عاماً بعد عام ، لتسميد أراضى الـوادى القديم ، وأراضى المناطق المستصلحة حديثاً الجارى استزراعها . ومما لاشك فيه فـإن الأسمدة المعدنية ضرورية ولازمة للنمو المحصولى ، غير أنها فى نفــس الوقــت ، مرتفعة الثمن مما يزيد من تكلفة الإنتاج ، إضافة إلى أن مايتبقى منــها بالتربــة ، أو يتسرب الى مياه الشرب ، أو يتصاعد لطبقات الجو العليا فى صورة أكاسيد ، يسـبب تلوثاً بالوسط البيئى ومتاعب صحية عديدة للحيوان والإنسان ، كل ذلك دفع بالإنســان إلى البحث عن بدائل ، ممثلة فى الاستفادة من التقنيات الخاصة بالتسميد الحيوى ، التى يمكن أن تساهم فى سد جزء كبير من إحتياجات النبات السمادية ، وتخفض من تكاليف الإنتاج ، وتقلل مما يحدث للبيئة من تلوثات .

وفى بداية هذا القرن ، بدأ التعرف على الدور الذى تلعبه البكتريا العقدية فــى زيادة إنتاج المحاصيل ، بتثبيتها لنيتروجين الهواء الجوى فى العقد الجذريــة للنباتــات البقولية ، ومنذ ذلك الوقت أخذت الأنظار تتجه الى استخدام أحياء التربة الدقيقة ، مــن خلال نشاطها ، كوسيلة لمد النباتات النامية ببعض احتياجاتها الغذائية ، ومن هنا بــدأ استخدام اصطلاح الأسمدة الحيوية .

ويقصد باصطلاح الأسمدة الحيوية ، كل الإضافات ذات الأصل الحيوى التــى تضاف للتربة لمد النبات النامى بإحتياجاته الغذائية ، وتسمى هــذه الاضافــات أيضــاً باللقاحات المكيروبية Microbial inoculants .

وتعتبر الأسمدة الحيوية مصادر غذائية للنبات رخيصة الثمن جداً إذا ماقورنت بالأسمدة المعدنية ، وذلك بالإضافة إلى أن لقاحات تلك الأسمدة الحيوية ، تفرز مــواداً منشطة لنمو النبات تساعد على إنبات البذور ونمو الجذور ، كما أنها تفرز الكثير مــن المضادات الميكروبية ، التى تقاوم الكثير من ميكروبات وفطريات التربــة الممرضــة للنبات ، وذلك بجانب إلى أنها كما ذكر سابقاً ، تقلل مما يحدث للبيئة مــن تلوثــات ، نتيجة الاستعمال المتزايد من الأسمدة المعدنية .

ومن أمثلة الأسمدة الحيوية ذات الأهمية الاقتصادية والتى تتواجد الآن بشــكل تجارى بالأسواق ، اللقاحات المثبتة لنيتروجين الهواء الجــوى مثــل الرايزوبيــا للبقوليــات ، والفرانكيا لغير البقوليات ، والسيانوبكتريا لأراضى الأرز ، واللقاحــات الميسرة للفوسفور مثل البكتريا المذيبة للفوسفات وفطريات الميكوريزا .

اللقاحات المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى

تقوم بعض بدائيات النواة المحبة للحرارة المتوسطة ، مثل أنواع من البكتريا والسيانوبكتريا ، بتثبيت نيتروجين الهواء الجوى لبناء بروتوبلازم خلاياها . وتمتاز هذه الكائنات بإحتوائها على إنزيم النيتروجيناز المثبت لنيتروجين الهواء الجوى على درجة الحرارة والضغط الجوى العادى ، بعكس الطرق الكيميائية ، مثل طريقة هابر بوش Haber Bosch ، التى يتم فيها إنتاج الأمونيا باستخدام نتروجين الهواء الجوى وإيدروجين الغازات الطبيعية ، فى وجود حرارة عالية وضغط مرتفع مع عوامل مساعدة أخرى .

ولبيان الأهمية الإقتصادية لعملية التثبيت البيولوجية ، فإنه عند مقارنة ثمن واحد كجم N بالسماد المعدنى ، بثمن واحد كجم N ناتج من تثبيت الرايزوبيا ، نجد أن الثمن سيصل فى حالة السماد المعدنى إلى حوالى جنيهاً واحداً ، بينما لايزيد ثمنه فى حالة التثبيت البيولوجي عن خمسة قروش ، وبفرض أن عملية التثبيت توفر حوالى ٦٠ وحدة نيتروجين للفدان فىحالة محصول زراعى كالفول البلدى مثلاً ، فإن التسميد البيولوجى سيوفر للفدان سماداً آزوتياً معدنياً بحوالى ٦٠ جنيهاً ، وسيكون الوفر الناتج عن زراعة مليون فدان هو ستون مليوناً من الجنيهات ، وينطبق القول على باقى المحاصيل البقولية .

لقاحات البكتريا العقدية للنباتات البقولية Rhizobial inoculants

تقوم البكتريا العقدية Nodule bacteria ، التابعة لجنسى *Rhizobium* & *Bradyrhizobium* بتثبيت النيتروجين الجوى ، داخل العقدة الجذرية ، حيث تعيش هذه البكتريا بجذور النباتات البقولية فى حالة معيشة تكافلية ، وفى هذه المعيشة يمد النبات البكتريا بما تحتاجه من المواد العضوية وغير العضوية اللازمة له ، بينما تمد البكتريا النبات بالمواد النيتروجينية التى تثبتها ، وتعيش هذه البكتريا فى التربة الزراعية بحالة حرة ، ولكنها لاتثبت النيتروجين إلا فى حالة المعيشة المشتركة مع النبات البقولى .

تنمو هذه البكتريا جيداً على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة ، وهى بكتريا هوائية ، غير متجرثمة سالبة لصبغة جرام محبة للحرارة المتوسطة ، وتكون عصوية الشكل فى التربة والبيئات الصناعية ، بينما تظهر فى العقد الجذرية بأشكال متفرعة مثل T, L, Y, X, V ، تعرف بالبكتيرويدات Bacteroids (شكل ٦-٢) .

وتحتوى الخلايا البكتيرية على حبيبات كروماتينية وحبيبات بيتاهيدروكسى بيوتيرات Beta-hydroxybutyrate لاتصبغ بالصبغ العادى ، مما يعطى الخلايا المصبوغة شكلاً مخططاً .

شكل (٦-٢): بكتيرويدات من عقد جذرية لنبات البسلة

سرعة نمو البكتريا العقدية

تقسم البكتريا العقدية على أساس سرعة نموها على بيئة المانيتول ومستخلص الخميرة الى

١- أنواع سريعة النمو Fast growing ، وتمتاز بأن متوسط عمر الجيل بها حوالى ٤ ساعات ، ويصل أقصى نمو لها بعد ٤٠-٧٠ ساعة ، وأنواع هذه المجموعة تفرز أحماضاً بالبيئة أثناء نموها ، مما يزيد من حموضة البيئة ، وهى تتبع جنس رايزوبيوم *Rhizobium* ، ومثلها بكتريا مجموعة البرسيم .

٢- انواع بطيئة النمو Slow growing ، وتمتاز بأن متوسط عمر الجيل بها حوالى ١٠ ساعات ، ويصل أقصى نمو لها بعد ١٠٠-١٩٠ ساعة ، وأنواع هذه المجموعة تفرز أثناء نموها مواداً بالبيئة ذات تأثير قلوى ، مما يزيد من قلوية البيئة ، وهى تتبع جنس برادى رايزوبيوم *Bradyrhizobium* ، ومثلها بكتريا فول الصويا .

التخصص فى البكتريا العقدية

البكتريا العقدية شديدة التخصص بالنسبة للعائل البقولى الذى تتكافل معه ، فلكل نبات بقولى أو مجموعة من النباتات البقولية ، نوعاً بكتيرياً معيناً يكون العقد بجذوره ، أما باقى الأنواع البكتيرية فتكون غير قادرة على غزو هذا النبات ، أو قد تغزوه ولكنها تكون عقداً ضعيفة بجذوره ، غير قادرة على تثبيت النيتروجين . وتسمى مجموعة النباتات البقولية التى يغزوها نوع واحد من البكتريا العقدية ، باسم مجموعة تبادلية التلقيح Cross inoculation group ، فمثلاً هناك مجموعة البسلة وهى تضم نباتات البسلة والفول البلدى والعدس ... وغيرها ، والنوع البكتيرى الذى يكون عقداًجذرية بنباتات هذه المجموعة النباتية هو *Rhizobium leguminosarum* ، أما مجموعة البرسيم المصرى فيغزوها النوع *Rhizobium trifolii* ، وهكذا فى باقىالمجاميع النباتية الأخرى (جدول ٣-٢) .

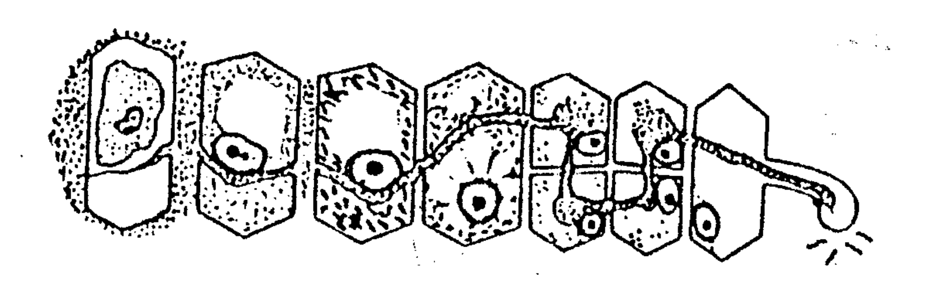
جدول ٣-٢ : المجموعات النباتية وأنواع البكتريا المتخصصة فى إصابتها

اسم المجموعة	نوع البكتريا	النباتات التى تضمها المجموعة تبادلية التلقيح
أ) مجموعات سريعة النمو **Genus Rhizobium**		
- مجموعة البرسيم الحجازى Alfal alfa group	*R. meliloti*	البرسيم الحجازى ، الحلبة ، الحندقـــوق ، النفل
- مجموعة البرسيم Clover group	*R. trifolii*	البرسيم المصرى ، البرسيم الأحمر ، البرسيم القرمزى
- مجموعة البسلة Pea group	*R. leguminosarum*	البسلة ، بسلة الزهور ، عدس، فول بلدى
- مجموعة الفاصوليا Bean group	*R. phaseoli*	فاصوليا
ب) مجموعة بطنية النمو **Genus Bradyrhizobium**		
- مجموعة الترمس Lupine group	*B. lupini*	الترمـــس
- مجموعة فول الصويا Soybean group	*B. japonicum*	فول الصويا
- مجموعة اللوبيا Cowpea group	*B. sp.*	حمـص ، فاصوليـــا ليمـــا ، لبـــلاب ، لوبيا
- مجموعة الفول السودانى Groundnut group	*B. arachis*	فول سودانى

مراحل تكوين العقدة البكتيرية

تبدأ عملية تكوين العقدة البكتيرية بعد إنبات بذرة النبات البقولى مباشرة ، حيث تفرز جذور النبات النامى ، موادا تشجع من نمو وتكاثر الميكروبات الموجودة حـــول الجذر ومنها البكتريا العقدية . فإذا كانت تلك البكتريا العقدية من النـــوع المتخصـــص

للنبات البقولى النامى ، فإنها تلتصق بالجذر وتسبب إنحناء الشعيرة الجذريـــــة ، ثـــم تغزوها من منطقة الإنحناء ، وتبدأ فى تكوين خيط العدوى بالشعيرة ، وهو خيطاً مـــن البكتريا العقدية النامية ، محاط بأنبوبة سليلوزية يكونها النبات المصاب (شكل ٦-٣) .



(شكل ٦-٣) : انتشار خيط العدوى فى خلايا الجذر

ويستمر خيط العدوى فى النمو حتى يصل الى خلايا قشـــرة جـــذر النبـــات ، فتنشط خلايا القشرة المصابة وتنقسم وتتكاثر ، وبذلك تتكون العقدة التى يتـــم تكوينـــها خلال حوالى ٢٠ يوماً من بدء الإصابة .

عندما تتكون العقدة تبدأ مرحلة المعيشة التكافلية بين النبات والبكتريا العقديـــة، حيث تتصل العقدة بالحزم الوعائية للجذر ، ويتم إنتقال المواد المغذية من النبات إلـــى البكتيريا ، والنيتروجين المثبت من البكتريا الى النبات . وتكون البكتريا فـــى العقـــدة الناضجة فى طور البكتيرويد ، وهو الطور البكتيرى من البكتريا العقدية القادر علـــى تثبيت النيتروجين الجوى ، لإحتواء خلاياه على إنزيم النيتروجيناز المثبت للنيتروجين.

بعد حوالى سبعة أسابيع من تكون العقدة ، تتحول البكتريا العقدية من مرحلـــة تبادل المنفعة الى مرحلة تطفل ، وتتحلل العقدة ، وتخرج البكتريا العقدية من الجذر إلى التربة ، وتبقى بها إلى أن تعيد إصابة نبات بقولى جديد .

إذا لم تكن البكتريا العقدية من النوع المتخصص على غزو جذر النبات البقولى النامى بالتربة، فإن التصاق البكتريا بالجذر لايتم أو يكون ضعيفاً ، وقد تتكون عقـــدة بكتيرية غير فعالة تمكث حوالى أسبوع ثم تتحلل .

إنتاج لقاحات البكتريا العقدية

تنتج لقاحات البكتريا العقدية الآن بشكل تجارى لتسميد المحاصيل البقولية ، سواء فى الأراضى القديمة ، أو الأراضى حديثة الاستزراع ، أو عند إدخال صنف بقولى جديد .

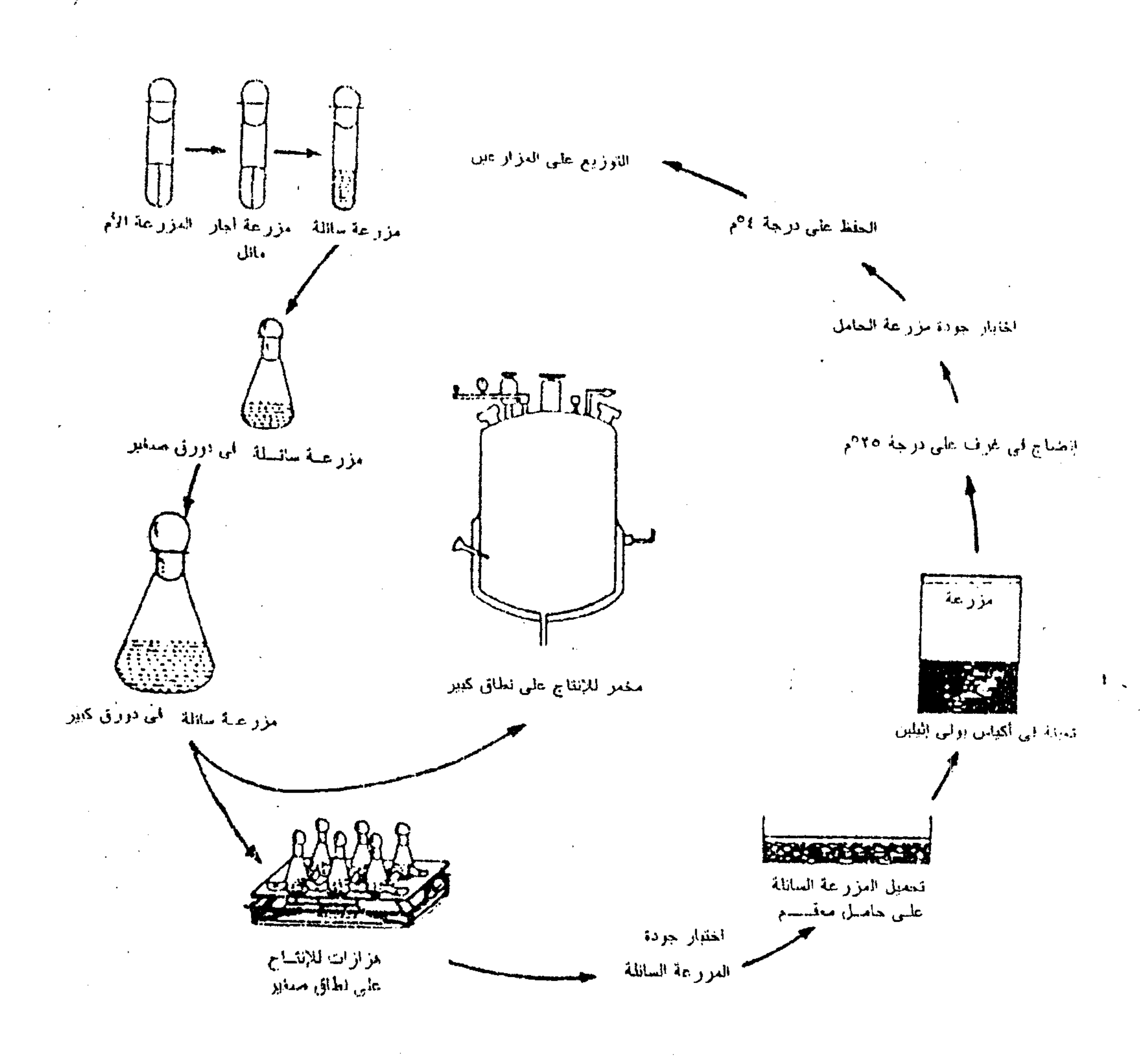
ولإنتاج اللقاح (شكل ٦-٤) ، تنمى السلالة البكتيرية المطلوبة فى بيئة سائلة مناسبة مثل بيئة مستخلص التربة ، وتترك البكتريا لتنمو على درجة ٢٥°م ، حتى إذا مابلغ النمو أقصاه (٣ أيام للسريعة النمو ، ٧ أيام للبطيئة النمو) ، يضاف السائل المحتوى على البكتريا الى ماده حاملة Carrier سبق تعقيمها ، مثل السماد العضوى الصناعى أو البيت Peat أو خلطة من الطمى والسماد العضوى الصناعى والفحم ، على أن تكون درجة الرطوبة النهائية حوالى ٥٠% ، ثم يعبأ المخلوط فى أكياس بولى إثيلين معقمة ، وتجرى اختبارات الجودة للمنتج ، ثم يوزع بالأسواق ، ويصل عدد البكتريا العقدية باللقاح حوالى ٥٠٠ × ١٠^٦/جم على الأقل .

اللقاحات المحضرة بهذه الطريقة ، يمكن أن تحتفظ بحيويتها لفترة طويلة ، إذا ماروعيت ظروف النقل والتخزين والحفظ على درجات حرارة منخفضة لحين الاستعمال . ويجب قبل استعمال اللقاح إجراء اختبارات الجودة عليه ، بتقدير عدد الرايزوبيا واختبار حيويتها والتأكد من قلة التلوث .

وتحضر هذه اللقاحات الآن بكثرة ، وتوجد حالياً بالأسواق تحت أسماء مختلفة مثل عقدين ، رايزوباكترين ، نتروبين ... الخ ، أو بأسماء أخرى حسب الجهة المنتجة ونوع اللقاح المحضر . قد يحتوى اللقاح على صنف بكتيرى واحد لتلقيح النباتات التى تقع فى مجموعة تبادلية واحدة ، مثل لقاح مجموعة البرسيم ، ولقاح مجموعة البسلة ، أو قد يحتوى اللقاح على السلالة البكتيرية الخاصة بتلقيح نبات معين فى المجموعة الواحدة مثل *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* الخاص بتلقيح الفول البلدى ، أو قد يحتوى اللقاح على عدة أنواع بكتيرية تصلح لتلقيح نباتات أكثر من مجموعة نباتية ، مثل مجموعتى البرسيم الحجازى وفول الصويا .

أستعمال اللقاح

لاستعمال اللقاح تؤخذ كمية مناسبة منه (العبوة حوالى ٢٠٠ جرام تكفى لتلقيح تقاوى فدان) ، ويضاف إلى اللقاح كمية كافية من المياه لعمل معلق ، ثم يضاف المعلق الى البذور ، مع التقليب الجيد ثم الزراعة مباشرة .



(شكل ٦-٤) : خطوات انتاج لقاح الرايزوبيا

لقاح الفرانكيا للنباتات غير البقولية Frankia inoculant

تتكون العقد البكتيرية المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى تكافلياً على جذور بعض النباتات غير البقولية ، ومعظم هذه النباتات أشجار خشبية معمرة تنمو فى أراضى فقيرة نسبياً ، وتنتشر فى أماكن كثيرة من العالم ، ومن هذه الأشجار ماله أهمية اقتصادية ، فبعضها مثل الكازورينا مثبت للكثبان الرملية ، ويحسن من خواص التربة المنزرع بها ، وبعضها مثل شجر الألناس Alnus ، يستعمل خشبها فى صناعة الأنواع الجيدة من الأثاث . وبالإضافة إلى ذلك ، فإن نمو هذه الأشجار المثبتة للنيتروجين الجوى فى أراضى فقيرة فى النيتروجين ، يزيد من محتوى التربة من النيتروجين زيادة واضحة ، ويفيد المزروعات والأشجار الأخرى المجاورة لها ، غير القادرة على تثبيت النيتروجين . ومن هنا يتضح أهمية تلقيح تلك النباتات غير البقولية المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى ، والبكتريا التى تقوم بهذا الدور تتبع جنس فرانكيا .

الفرانكيا Frankia

ينتمى جنس الفرانكيا الى مجموعة الأكتينوميسيتات ، وهو موجب لصبغة جرام هوائى ينمو فى خيوط (هيفات) ويكون جراثيم اسبورانجية ، وافراده بطيئة النمو، وتمتاز بأنها قادرة على تكوين عقد جذرية مع بعض النباتات غير البقولية ، مثل شجر الألناس والكازورينا ، وبداخل العقدة الجذرية فإن بكتريا الفرانكيا تكون قادرة على تثبيت نيتروجين الهواء الجوى تكافلياً .

وتوجد الفرانكيا فى التربة الزراعية فى حالة حرة فى شكل خيوط ، وفى هذه الحالة فإنها لاتستطيع تثبيت نيتروجين الهواء الجوى ، وبداخل العقدة الجذرية ، فإن هيفات الفرانكيا تأخذ أشكالاً متعددة ، فمنها مايشبه الخيوط ، ومنها مايكون خيوطاً لها نهايات ذات أوعية صولجانية أو كروية الشكل ، وهذه الأوعية هى مكان إنزيم النيتروجيناز وتثبيت النيتروجين .

تظهر العقد على جذور النبات ، بعد مدة تتراوح مابين ١٠-٢٠ يوماً من إضافة لقاح الفرانكيا ، وتتشابه عملية غزو الفرانكيا لجذور النبات وتكوين العقد البكتيرية ، مع مثل مايحدث بين بكتريا الرايزوبيا والنباتات البقولية ، حيث تقترب بكتريا الفرانكيا وهى فى صورة هيفات من جذر النبات ، فإذا كانت البكتريا متخصصة ، يحدث إنحناء لطرف الشعيرة الجذرية ، ثم تغزوها البكتريا ويتكون خيط العدوى ، وتمتد هيفات البكتريا إلى قشرة الجذر حيث تتكون العقدة الجذرية ، ويثبت النيتروجين ، وتتم عملية تبادل المنفعة بين البكتريا والنبات العائل .

وتحت الظروف المناسبة، فإن الفرانكيا تثبت فى المتوسط حوالى ٥٠ كجم نيتروجين فى السنه للهكتار .

تحضير اللقاح

يتبع الفرانكيا عدة أنواع ، وهى شديدة التخصص بالنسبة للنبات الذى تصيبه وتكون به عقداً جذرية ، والفرانكيا ذات احتياجات غذائية خاصة .

ولإنتاج اللقاح ينمى النوع المطلوب فى بيئة سائلة تحتوى على مصادر مناسبة من الكربون مثل بروبيونات الصوديوم ، والنيتروجين مثل كلوريد الأمونيوم ، بالإضافة الى بعض الأملاح المعدنية مثل الموليبدنيوم والكوبالت ، والفيتامينات مثل فيتامين ب٦ ، ب١٢ ، مع ضبط الرقم الإيدروجينى عند ٧,٠ ، والتحضين على درجة ٢٨°م لعدة أسابيع . وبعد أن يصل النمو لأقصاه تضاف المزرعة السائلة إلى مادة حاملة هى الجينات الصوديوم ، ويعبأ فى أكياس بولى اثيلين معقمة . واللقاح المحضر بهذه الطريقة يمكن أن يحتفظ بحويته لعدة أشهر على درجة حرارة الغرفة . وعند الإستعمال ، يعاد إذابة الألجينات فى محلول منظم ويضاف المعلق الى التربة .

الألجينات هى أملاح حامض الألجنيك ، وهى تشبه السليلوز فى تركيبها الكيميائى، وتستخرج من بعض الطحالب البيئية مثل طحلب لاميناريا .

تلقيح التربة بالفرانكيا

كان المتبع سابقاً فى تلقيح التربة بالفرانكيا ، هو أخذ عقد جذرية من نباتات نامية وطحنها وإضافتها للتربة ، لأنه حتى وقت قريب كان من الصعب تنمية الفرانكيا معملياً ، وقد تم التغلب على ذلك بعد معرفة الإحتياجات الغذائية الكاملة والظروف البيئية المناسبة لنمو الفرانكيا معملياً .

وبذلك يعتبر انتاج لقاح الفرانكيا معملياً من التقنيات الحيوية الحديثة فى المجال الزراعى ، ويوفر اللقاح المحضر طريقة سهلة فى الاستخدام ، ذات نتائج مضمونة ، ولاتسبب تلوثاً للتربة بميكروبات مرضية ، كان من الممكن أن تنتقل مع اللقاح المستخدم بالطريقة القديمة .

اللقاحات الميسرة للفوسفات Phosphate dissolving inoculants

يتوفر الفوسفور فى التربة الزراعية فى صور عديدة ، عضوية مثل الفوسفور الموجود بالأحماض النووية ، ومعدنية مثل فوسفات الكالسيوم ، والمغنسيوم . وأعراض نقص الفوسفور التى تظهر على النباتات ، لاترجع إلى نقص الكمية الكلية من الفوسفور الموجود بالتربة ، ولكن تعود الى نقص الفوسفور الميسر ، أى القابل للإستفادة بواسطة النبات .

وتحت ظروف الأراضى القاعدية ذات الرقم الايدروجينى المرتفع ، مثل أراضى مصر ، فإنه عندما يضاف الى التربة سماد فوسفات الكالسيوم الأحادى $Ca(H_2PO_4)_2$ القابل للإستفادة بواسطة النبات ، فإنه يتحول بسرعة إلى الحالة الثلاثية غير الذائبة $Ca_3(PO_4)_2$ ، وهى الأقل صلاحية للنبات . وتلعب جذور النبات النامى والميكروبات الميسرة للفوسفات ، بما تفرزه من CO_2 وإنزيمات وأحماض عضوية عديدة ، دوراً رئيسياً فى تيسير الفوسفات للنبات ، وتحويل الفوسفات مرة أخرى إلى الصورة الذائبة .

ويعود التأثير المفيد لتلقيح التربة بالميكروبات الميسرة للفوسفات ، مثل فطر الميكوريزا وأنواع من بكتريا الباسلس ، ليس فقط الى دور هذه الميكروبات النشط فى إذابة الفوسفات المعدنى الموجود بالتربة ، بل وأيضاً إلى ماتفرزه تلك الميكروبات من مواد مشجعة لنمو النبات الملقح بها . ومن هنا يتضح أهمية تحضير لقاحات الميكروبات الميسرة للفوسفات .

اللقاح البكتيرى

من اللقاحات البكتيرية التى تستخدم بنجاح الآن لتيسير الفوسفات بالأراضى بكتريا *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* ، وهى بكتريا عصوية موجبة لصبغة جرام متجرثمة هوائية متحركة .

ويحضر اللقاح ، بتنمية هذه البكتريا فى بيئة سائلة ، وبعد تمام النمو تنقل المزرعة البكتيرية إلى حامل مناسب من الكاؤولينايت أو على مادة عضوية ، وتعبأ وتوزع . ويضاف اللقاح الى البذور عند الزراعة ، أو تلقح بها جذور النباتات النامية .

ولهذا اللقاح أسماء تجارية ، منها الفوسفورين Phosphorin والفوسفوباكترين Phosphobacterin ، ويستعمل اللقاح على نطاق واسع فى مناطق كثيرة بآسيا وروسيا . قد يباع اللقاح بشكل منفرد ، أو يخلط مع لقاحات أخرى مثل تلك المثبتة لنيتروجين الهواء الجوى ، لعمل لقاح متعدد الأغراض ، وذلك لزيادة الفائدة .

لقاح الميكوريزا Mycorrhizal inoculant

أهمية الميكوريزا

تلعب فطريات الميكوريزا دوراً فعالاً فى تيسير الفوسفات الموجود بالتربة ، للنباتات التى تتعايش معها ، وذلك بما تفرزه هيفاتها من إنزيمات مثل الفوسفاتيز ومن أحماض عضوية متعددة . وبذلك فإن الميكوريزا تمثل وسيلة فعالة لتقليل التكالي المستخدمة فى التسميد بالأسمدة الفوسفاتية . وعلاوة على ذلك فإن الميكوريزا تعمل على إمداد النباتات بالأملاح المعدنية الأخرى كالحديد والزنك والكالسيوم والبوتاسيوم فى حالة ميسرة ، إضافة إلى أنها تمد النبات ببعض منظمات النمو ، وتساعده على مقاومة بعض المسببات المرضية ، بما تفرزه من مواد مضادة . ومن هنا يتضح أهمية تحضير لقاحات الميكوريزا واستخدامها فى تلقيح النباتات ، كتقنية من تقنيات التسميد الحيوى .

فطر الميكوريزا

الميكوريزا من الفطريات ، ومنها أجناس عديدة ، وهى تنمو فى خيوط (هيفات) وتتكاثر بالجراثيم الجنسية واللاجنسية ، وتوجد فى التربة فى الحالة الحرة كجراثيم ساكنة كبيرة الحجم وكهيفات دقيقة ، كما تعيش تكافلياً مع جذور بعض النباتات .

فى المعيشة التكافلية ، نجد منها مايعيش خارج جذر النبات مكوناً غلافاً حول جذر العائل ، كما تمتد هيفاتها بين خلايا منطقة قشرة الجذر ، وتسمى هذه الأنواع ميكوريزا خارجية التغذية Ectotrophic mycorrhiza ومثلها فطريات جنس *Boletus* . وتوجد هذه الأنواع الفطرية بين خلايا جذور كثير من الأشجار الهامة إقتصادياً كشجر الزان والصنوبر ، وغيرها من أشجار الغابات .

ومنها مايعيش تكافلياً بداخل خلايا جذر النبات ، وتسمى هذه الأنواع ميكوريزا داخلية التغذية Endotrophic mycorrhiza ومثلها فطريات جنس *Glomus*; *Gigaspora* . وتوجد هذه الأنواع الفطرية بداخل خلايا جذور كثير من نباتات محاصيل الحقل والخضر والفاكهة . وتنمو فطريات هذه المجموعة بداخل خلايا جذر العائل مكونة بعد عدة أيام من غزوها لخلايا الجذر ، تفرعات شجيرية الشكل وأوعية بداخل خلايا جذر النبات ، لذا تسمى هذه الأنواع أيضاً ، بالميكوريزا الداخلية ، ذات الأوعية والتفرعات الشجيرية Vesicular arbuscular mycorrhiza, VAM وتتحلل تلك التفرعات بعد ٢-٣ أسابيع من غزو الفطر لخلايا الجذر ، ليتكون بدلاً منها تفرعات جديدة .

أثناء المعيشة التكافلية ، تقوم التفرعات الشجيرية بعملية تبادل للمواد الغذائية بين الفطر والنبات ، حيث يمد الفطر النبات بالأملاح المعدنية الميسرة مثل الفوسفات والحديد والكالسيوم والزنك ... وغيرها من العناصر ، ويمد النبات الفطر بنواتج التمثيل من كربوهيدرات وأحماض أمينية وفيتامينات ، وتعمل أوعية الفطر كأعضاء تخزين .

وبعد غزو الميكوريزا لجذور النبات ، يبقى جزء من هيفات هذه الفطريات خارج الجذر ممتدة فى التربة لمسافات بعيدة ، تعمل كشبكة إضافية من الشعيرات الجذرية ، التى تساعد فى إنتقال الماء والعناصر الغذائية الميسرة من التربة إلى النبات

التلقيح

تحدث عدوى بادرات الأشجار بهيفات الميكوريزا ، من النباتات المجاورة أو من الجراثيم الموجودة بالتربة أو بزراعة شتلات سبق تلقيح أرض مشتلها بالفطر المطلوب . والطريقة الأخيرة هى الشائعة فى الإستعمال ، حيث تلقح أرض المشتل قبل زراعته ، بتربة بها الفطريات المطلوبة بمعدل ١٠% من حجم تربة المشتل ، وتخلط بالطبقة السطحية لعمق ١٠ سم ، وبعد الزراعة والنمو ، تنقل الشتلات بمجموعها الجذرى ومايحيط به من تربة إلى المكان المستديم ، وبذلك يتهيأ وسطاً مناسباً لنمو الميكوريزا . ويفضل معاملة تربة المشتل قبل التلقيح ، بمبيدات الآفات المناسبة للتخلص مما به من كائنات ضارة ، لتجنب إنتقالها إلى الحقل المستديم .

وفى السنوات الأخيرة ، بعد أن عرفت إحتياجات الميكوريزا الغذائية ، فقد أمكن تنميتها معملياً ، وبعد تمام النمو وتكون الجراثيم الفطرية ، تجمع الجراثيم وتحمل على حامل مناسب ، وتعبأ وتوزع ، ويستعمل اللقاح لتلقيح البذور عند الزراعة ، أو لتلقيح جذور النباتات النامية . ويتميز اللقاح المحضر بسهولة استخدامه، وجودته وتجنيب المزارع مشاكل التلوث التى تحدث من التلقيح بالطرق القديمة .

المبيدات الحيوية للآفات Biopesticides

تسبب الآفات خسائر إقتصادية كبيرة للمحاصيل الزراعية ، ويقاوم المزارع تلك الآفات باستعمال المبيدات الكيماوية . ونظراً لارتفاع تكاليف المقاومة الكيماوية عاماً بعد عام ، وماتسببه تلك الكيماويات من تلوث للبيئة ، وماتولده من أنواع من الآفات منيعة ضد الكيماويات ، وماتحدثه من أضرار للأعداء الطبيعية ، فإن العالم يتجه الآن بقوة لتطبيق أسلوب المكافحة الحيوية Biological control ، بأستخدام

المبيدات الحيوية للآفات Biopesticides كبديل للكيماويات ، وتجنباً لآثارها الضارة.

وفى المكافحة الحيوية للآفات ، تستعمل الوسائل البيولوجية ، وذلك بأستخدام كائن معين لمكافحة كائن آخر ، إذ لوحظ أن الكثير من الميكروبات من فيروسات وبكتريا وفطريات وبروتوزوا ، تهاجم الآفات والحشرات وتمرضها أو تقضى عليها ، ويمكن أن يستفاد من ذلك فى النواحى التطبيقية . ومن المجهريات المستخدمة الآن فى مقاومة الحشرات بنجاح أنواع تابعة لجنس باسلس مثل *Bacillus thuringiensis* خاصة السلالة B.t. HD-١ ، التى بدأ انتاجها بشكل تجارى لتستعمل كمبيد حيوى.

وتسمى التحضيرات الميكروبية التى تستعمل فى مكافحة الآفات بأسم المبيدات الحيوية للآفات Biopesticides ، ويشترط فيها أن لاتكون ضارة بالنبات أو الحيوان أو الإنسان .

بكتريا *Bacillus thuringiensis*, B.t

بكتريا واسعة الانتشار فى الطبيعة ، توجد فى التربة ، والمخلفات الزراعية والحيوانية ، والحشرات الميته . وهى بكتريا عصوية الشكل موجبة لصبغة جرام متجرثمة متحركة بأسواط محيطية . ويضم النوع مجموعة من السلالات ، يميز بينها بالاختلافات السيرولوجية الموجودة بأنتجينات أسواط الخلية .

تتميز هذه البكتريا بأنها تكون توكسينات متعددة منها :

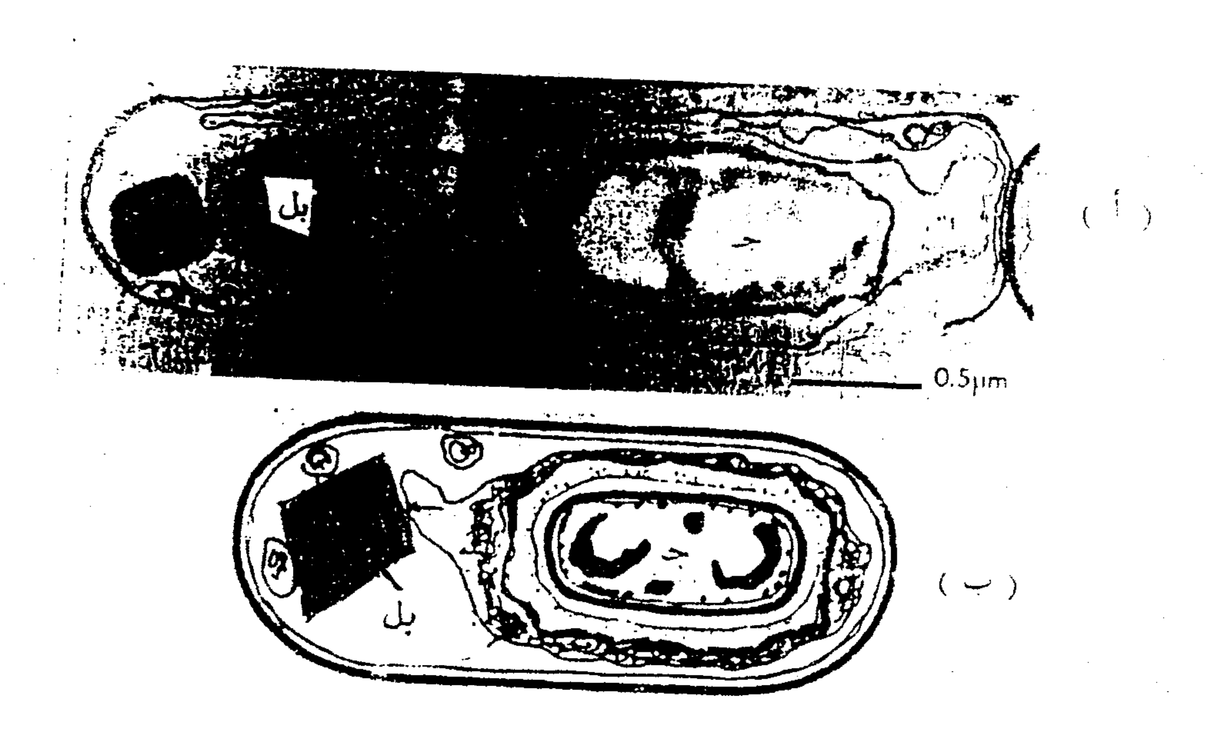
١- **توكسينات خارجية Exotoxins** ، وهذه تفرز خارج خلية البكتريا ، منها أنواع ألفا وبيتا وجاما ، والنوع بيتا الذى تفرزه بعض السلالات ، قابل للذوبان فى الماء ومقاوم للحرارة وذو وزن جزيئى صغير ، وهو وإن كان شديد السمية لبعض الحشرات كالذباب المنزلى ، إلا أنه سام أيضاً للنباتات والثدييات ، مما يلزم تجنب وجوده فى التحضيرات الميكروبية .

٢- **توكسينات داخلية ، من نوع d-endotoxins** ، وهى توجد فى شكل بلورى بداخل الخلية البكتيرية فوق الجرثومة الداخلية للبكتريا ، عندما تكون الخلية البكتيرية فى طور الاسبورانجيا (شكل ٦-٥) . شكل البلوره وحجمها يختلف بإختلاف السلالة البكتيرية فقد تكون البلورة ذات شكل مغزلى وهو الغالب ، أو تكون مكعبة الشكل أو غير منتظمة .

هذا التوكسين الداخلى عبارة عن جليكوبروتين وهو ذو وزن جزيئى مرتفع قد يصل إلى ٢٥٠ ألف دالتون ، والجزء السام به سلسلة عديدة الببتيدات .

ويستخدم هذا السم بنجاح فى مكافحة الحشرات التابعة لرتبة حرشفية الأجنحة (اليرقات) ، أو غمدية الأجنحة (الخنافس) ، وزوجية الأجنحة (الذباب والناموس) .

ويحدث التسمم ليرقة الحشرة عند التغذية وتبتلع اليرقة ، مع الغذاء البكتريا ، وتظهر أعراض التسمم على اليرقة بأشكال مختلفة ، فقد يحدث لليرقة شلل عام ، أو شلل فى البلعوم ثم امتناع عن الأكل ، وتموت الحشرة خلال ٢-٤ أيام من دخول البكتريا بجسمها .



(شكل ٦-٥) : بكتريا .B.t فى طور الاسبورانجيا يوضح الشكل وضع البلوره (بل P.C) بالنسبة للجرثومة الداخلية (ج)
أ - صورة بالمجهر الإلكترونى × ٢٥,٣٧٠
ب - رسم تخطيطى

المستحضرات الميكروبية

يوجد الآن بالأسواق مستحضرات تجاريـــة مـــن بكتريـــا ثرنجينســـس مثـــل مستحضرات Bactospeine, Dipel وغيرها ، وهى تستخدم كمبيد حيوى فى مكافحة الحشرات مثل يرقات دودة ورق القطن ، والكرنب ، ويرقات الناموس . وتجهز هـــذه المستحضرات بتنمية السلالة البكتيرية المناسبة فى وسط غذائى ملائم ، ومنه يجـــهز المبيد فى صورة مبتلة أو جافة ، ويحتوى الجرام (أو ١ مل) من المبيد على مـــالايقل عن $١٠^{٨}$ خلية بكتيرية . ويستعمل المبيد بالحقل رشاً أو تعفيراً علـــى أوراق النباتـــات بالحقول المصابة .

ومجال استخدام تقنيات الهندسة الوراثية سواء لتحسين الصفـــات الوراثيـــة لســـلالات البكتريا المنتجة للمبيدات الحيوية ، أو لنقل الجينات الخاصة بإنتاج بروتيـــن البلـــورة السام Cry genes (Crystal protein genes) من البكتريا إلى كائنات أخرى ، يمكن أن يفتح آفاقاً واسعة لاستعمال الميكروبات كأداة عظيمـــة الفـــائده لمكافحـــة الآفـــات الزراعية .

﴿الموجـــــز﴾

تلعب التقنية الحيوية دوراً مهماً فى المجال الزراعى والبيئى ، بالاستفادة مـــن أنشطة الكائنات المجهرية الموجودة حولنا ، لانتاج مـــواد نافعـــة ، وتقليـــل مصـــادر التـــلوث ، من ذلك :

انتاج الوقود الحيوى

ويتم ذلك بتخمير المخلفات العضوية تحت ظروف لاهوائيـــــة ، فـــى وجـــود البكتريا المنتجة لغاز الميثان ، لانتاج الغاز الحيوى ، كبديل رخيص لمصادر الطاقـــة التقليدية ، مع الاستفادة من مخلفات التخمير كسماد عضوى ، إضافة إلى رفع المستوى الصحى بالأماكن القروية نتيجة التخلص من المخلفات الآدمية والحيوانية بطريقة آمنة.

إنتاج السماد العضوى الصناعى

ويتم ذلك بتخمير مخلفات المدن ، ومخلفات الحقل ، تحت ظـــروف مناســـبة لإنتاج سماد عضوى عالى القيمة ، يرفع إنتاجية الأراضى القديمة ، وكذلك الأراضـــى حديثة الاستصلاح بمناطق التوسع الجديدة .

إنتاج الأسمدة الحيوية

إستخدام الميكروبات كلقاحات تضاف إلى الأراضى الزراعية لخفـــض تكلفـــة الانتاج ، وتقليل تلوث الماء والتربة والهواء بالأكاسيد الضارة . ومن اللقاحات المنتجـة لقاح البكتريا العقدية للنباتات البقولية ، ولقاح الفرانكيا للنباتات غير البقولية ، واللقاحات الميكروبية الميسرة للفوسفات من بكتريا وميكوريزا .

إنتاج المبيدات الحيوية للآفات

بدأ استخدام المكافحة الحيوية كبديل للكيماويات تجنباً لآثار الكيماويات الضـــار وتقليلاً من النفقات ، ومن الكائنات المجهرية المستخدمة بنجاح فى مقاومة الحشـــرات بكتريا *Bacillus thuringiensis* ، والتى تنتج الآن بشكل تجارى وتستعمل كمبيـــد حيوى . ومن المتوقع أن يؤدى استخدام تقنيات الهندسة الوراثية إلى فتح آفاق واســـعة لإستعمال الميكروبات ، كأداة فعالة فى مكافحة الآفات الزراعية .

أسئلـــــة

* وضح أهمية التقنية الحيوية فى المجال الزراعى .
* ما هى المخلفات التى تصلح لإنتاج الغاز الحيوى ، وماهى مراحل التخمر ، ونواتج التخمر ، وكيف يتم الانتاج ؟
* بين الأهمية الاقتصادية والصحية لإنتاج الغاز الحيوى .
* أوصف البكتريا المنتجة لغاز الميثان وأنواعها ، والظروف الملائمة لنموها .
* وضح العوامل المؤثرة على انتاج البيوجاز .
* ماهى النقط الأساسية فى إنتاج سماد عضوى صناعى جيد ؟
* عرف الأسمدة الحيوية ، ووضح أهميتها فى الإنتاج الزراعى وفى مكافحة التلـوث البيئى .
* ماهى البكتريا العقدية . وأقسامها من حيث سرعة نموها ، وماهى مراحل تكويـــن العقد البكتيرية بجذر النبات ؟
* ماالمقصود بالمجموعات النباتية تبادلية التلقيح ؟
* ماهى الأسس العامة لإنتاج لقاحات البكتريا العقدية وكيفية استعمالها ؟
* ماهى الفرانكيا، وماأهميتها ، وكيف تحضر لقاحها ، وماطرق تلقيح التربة بها ؟
* ماأهمية الميكروبات الميسرة للفوسفات فى الأراضى المصرية ؟
* ماهى البكتريا الأساسية المستعملة كلقاح ميسر للفوسفات ، وكيف تحضر لقاحـها ، وكيف تستعمله ؟
* ماهى الميكوريزا ، وماأهميتها ، وأنواعها ، وكيـــف نحضـــر لقاحـــها ، وكيـــف تستعملـــــه ؟
* وضح أهمية استخدام المبيدات الحيوية فى مكافحة الآفات .
* أوصف بكتريا *Bacillus thuringiensis* ، وماهى التوكسينات التـــى تكونـــها ، والمستحضرات التى تحضر منها ، وطرق استعمال تلـك المســتحضرات كمبيـد حيوى.

الدرس العملى الأول

المجهـــــر Microscope

يعتبر المجهر أداة رئيسية لدارس التقنية الحيوية ، لفحص الكائنـــات الدقيقـــة والمزارع النسيجية ، لذلك فإن المهارة فى إستعمال وتداول هذه الأداة ، يعتـــبر شـــيئاً أساسياً .

توجد أنواع مختلفة من المجاهر ولكن أسسها العامة واحدة ، فهى نظام بصرى ضوئى للتكبير ، ويختلف عن ذلك المجهر الإلكترونى لأنه يعتمد على أسس فيزيائيـــة تختلف عن أسس المجهر الضوئى ، فهو يعتمد على الإشعاع الإليكترونى بـــدلاً مـــن الإشعاع الضوئى .

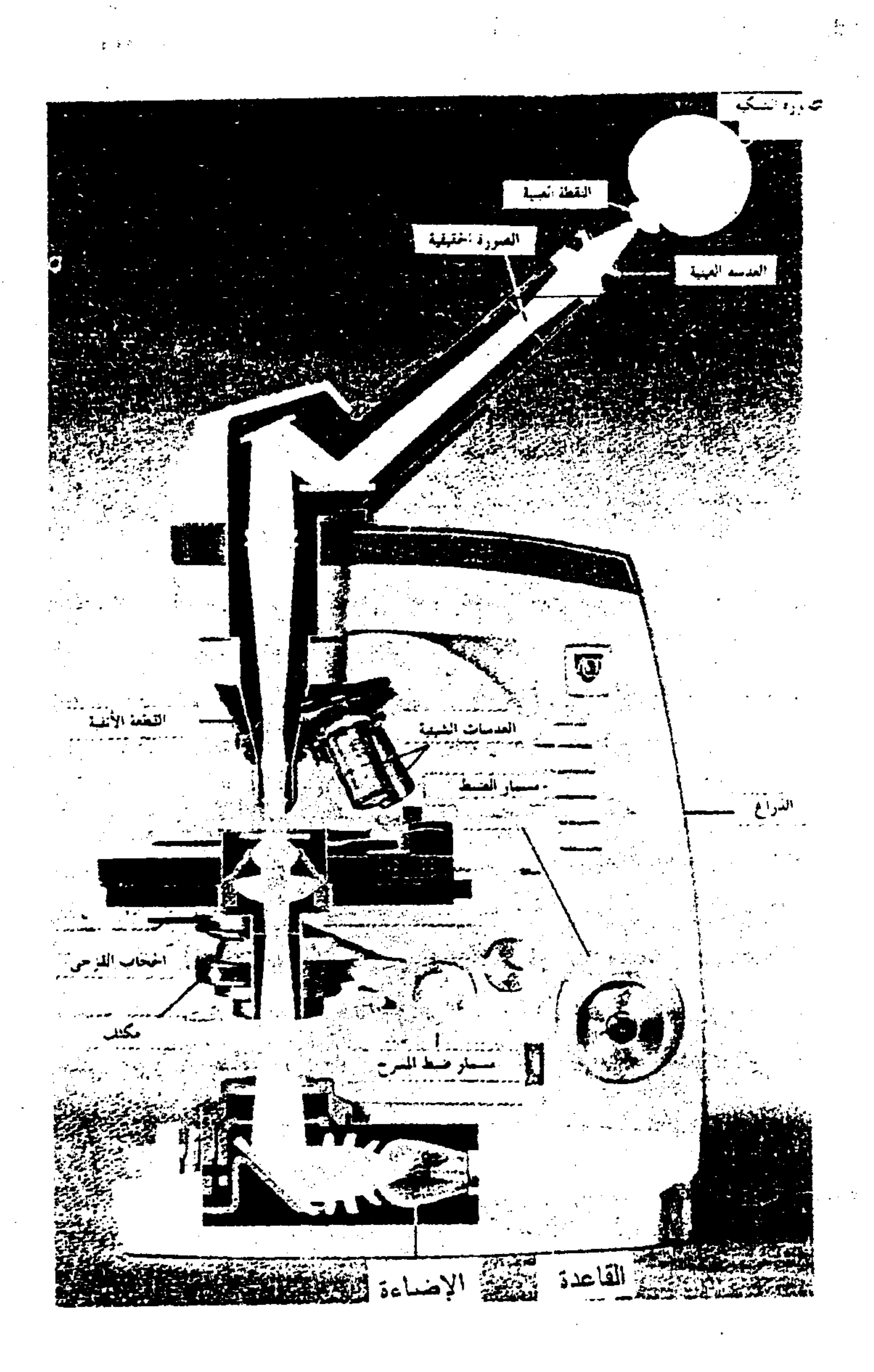
المجهر المركب Compound microscope

نحصل على التكبير بالمجهر المركب من خلال نظامين من العدسات (أنظـــر تركيب المجهر بشكل ١-١) ، العدسات الشيئية وهى القريبة من العينة المفحوصـــة ، وهى تكبر المرئى وتكون له صورة حقيقية معكوسة ، والعدسات العينية القريبـــة مـــن العين ، وهى تكبر الصورة الحقيقية الناتجة من العدسة الشـــيئية ، لتتكـــون الصـــورة التقديرية النهائية التى ترى بالعين . وعلى ذلك فان التكبير الكلى للمجهر= قوة تكبـــير الشيئية المستعملة × قوة تكبير العينية المستخدمة معها . وتعتمد القـــدرة التوضيحيـــة للمجهر الضوئى على طول موجه الأشعة الضوئية المستعملة ، لذلك فإن أقصى قـــدرة توضيحية له تصبح محددة بأقصر طول موجى من الأشعة الضوئية .

ويزود المجهر بثلاث شيئيات ذات أبعاد بؤرية مختلفة ، الصغرى (١٦ مـــم) والكبرى الجافة (٤ مم) والمنغمسة فى الزيت ، العدسة الزيتية ، (١,٨ مـــم) ، وكلمـــا قصر البعد البؤرى للشيئية ، قصرت مسافة التشغيل التى تقع بين المرئى والشيئية وقوة التكبير النهائية الناتجة عن استخدام العدسات الشيئية ، الثلاث المذكورة ســـابقاً ، مـــع عينية قوة تكبير × ١٠ ، تكون ١٠٠ ، ٤٤٠ ، ٩٥٠ على الترتيب .

العدسة الزيتية

عند استعمال العدسة الزيتية فى الفحص ، فإنه يوضع بينها وبيـــن الشـــريحة نقطة زيت سيدر لتغمس فيه . ويفضل زيت السيدر عن غيره ، لأن له معامل انكســـار يماثل معامل إنكسار الزجاج ، وإذا تعذر الحصول على زيت السيدر ، فيمكن اســـتعمال زيت البرافين .



شكل (١-١) : المجهر المركب

يعمل الزيت على زيادة كمية الضوء النافذة من المكثف إلى العدسة الزيتية ، أى زيادة كمية الإضاءة الداخلة للعدسة الزيتية وليس تكبير الصورة ، فالزيت يعمل على تجميع الأشعة ويمنع إنكسارها عند خروجها من زجاج الشريحة إلى الهواء ثم إلى العدسة ، فتزداد كمية الإضاءة .

وتعتبر العدسة الزيتية أقوى عدسات المجهر الضوئى المركب ، وبواسطتها يمكن الحصول على أكبر تكبير يمكن الحصول عليه بالمجهر ، لذلك فإنها تستعمل فى فحص التحضيرات الجافة للأغشية المصبوغة من البكتريا .

وفى كل مرة عقب الانتهاء من الفحص بالزيتية ، ينظف الزيت الموجود على العدسة بورق تنظيف العدسات ، حتى تعود العدسة إلى حالتها الأولى .

تدريب (١) من الشرح الذى تتبعته بالمختبر

١ - إرسم المجهر المركب مع كتابة الأجزاء على الرسم .

٢ - بين الاستعمال الخاص بكل عدسة شيئية من العدسات الثلاثة المزود بها المجهر المركب .

٣ - وضح بالرسم مسار الأشعة عند استخدام زيت السيدر مع العدسة الزيتية للمجهر، وأثر ذلك فى زيادة الاضاءة .

٤ - كيف يظهر الغشاء المصبوغ تحت العدسة الزيتية بدون وضع زيت بين الشريحة والعدسة الشيئية ؟ ولماذا ؟

٥ - ماهى حدود التكبير بالمجهر الضوئى .

تدريب (٢)

من عينة المياه الراكدة التى أمامك ، جهز تحضيرا بالطريقة المبتلة ، بوضع نقطة من العينة بواسطة الإبرة ذات العقدة على شريحة ، ثم غط بغطاء الشريحة بإحتراس لتجنب وجود فقاعات هوائية .

إفحص التحضير بالمجهر بالقوة الصغرى ثم الكبرى ، وأرسم ماتشاهده .

تدريب (٣)

إفحص بالعدسة الزيتية شرائح الميكروبات المجهزة التى أمامك ، لاحظ أشكال الميكروبات ، ونظام تجمعها ، والتجرثم ، إرسم ماتشاهده .

المجهر الإلكتروني Electron Microscope

يعتمد المجهر الالكتروني في الفحص على استخدام شعاع من الإلكترونات بدلاً من الضوء المرئى ، لذلك فإن قدرته التوضيحية أكبر مئات المرات من المجهر الضوئى ، ولذلك فهو يستعمل فى فحص الأجسام الدقيقة كالبكتريا والفيروسات ؛ والتركيبات الداخلية للخلايا الميكروبية .

وفى المجهر الإلكترونى يمر الأشعاع الإلكترونى تحت تفريغ تام ، خلال سلسلة من المجالات المغناطيسية التى توجه الالكترونات بطريقة تماثل عمل نظام العدسات فى المجهر الضوئى (شكل ١-٢) ، ولذلك فإن الإلكترونات التى تنفذ ، أو تنعكس ، من الشيء المفحوص توجه لتكوين صورة مكبرة يمكن تصويرها على لوحات حساسة ، أو مشاهدتها على شاشة عرض مفسفرة تسمح برؤية صورة لامعة. ويحتاج إعداد العينة للفحص إلى طرق خاصة .

يوجد نوعان رئيسيان من المجهر الإلكترونى:

١- المجهر الالكترونى النافذ Transmission

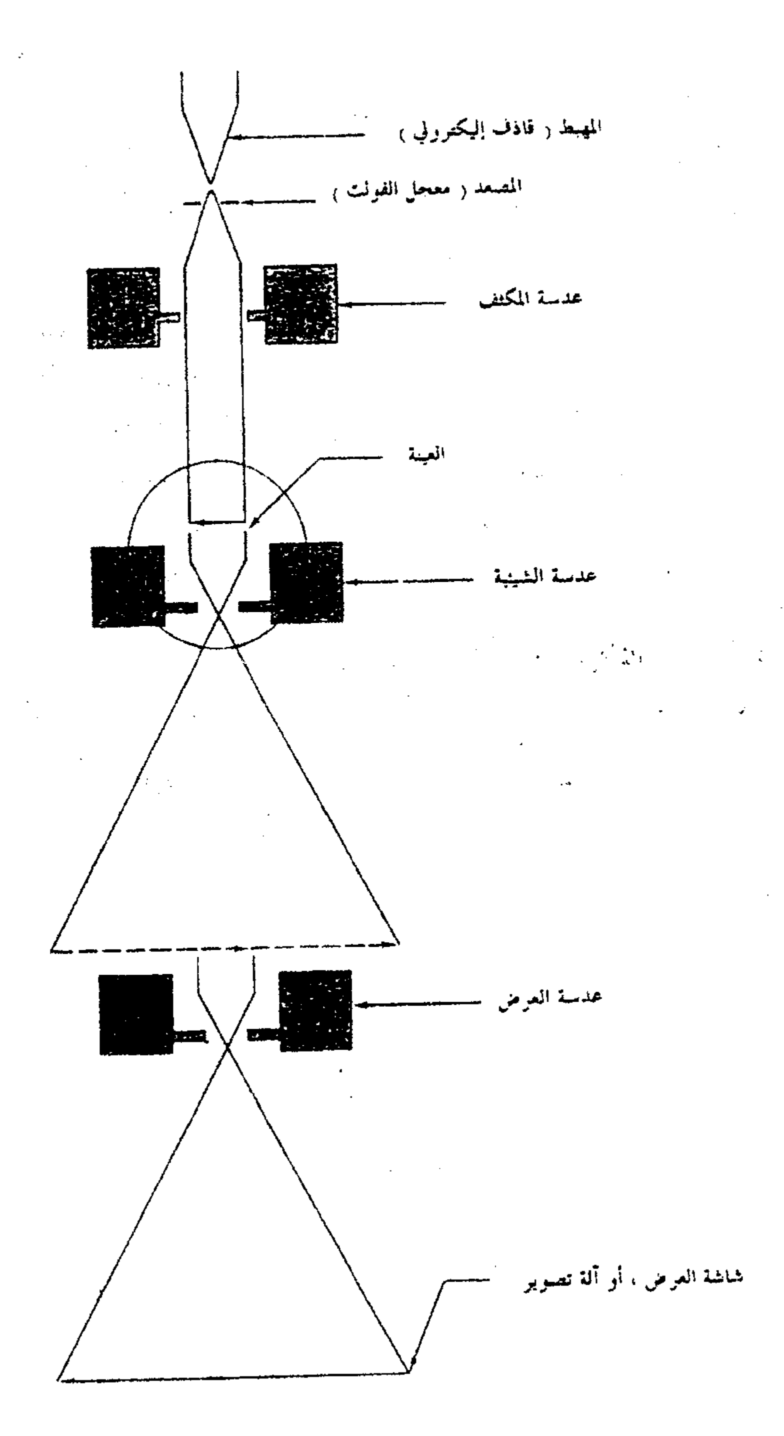
وفيه تتعرض العينة كلها للإشعاع الالكتروني الذى ينفذ أو يمر من العينة المفحوصة ، ليكون صورة على شاشة العرض ، ويأتي التباين فى الصورة من الإختلافات فى الكثافة الإلكترونية لمحتويات العينة ، أو من كمية الالكترونات التى تستطيع المرور من العينة . أو من كمية الالكترونات التى تستطيع المرور من العينة. ويتطلب الفحص بهذا المجهر عمل قطاعات دقيقة من العينة .

٢- المجهر الالكترونى الماسح Scanning

وفيه يتعرض سطح العينة المفحوصة المغطى بفيلم رقيق من الذهب الخالص ، لكميات قليلة من الإشعاع الإلكترونى ، الذى يمسح سطح العينة ثم ينعكس من على سطحها ، مما يسمح بأخذ صورة على شاشة العرض توضح تفاصيل سطح العينة الجارى فحصها .

تدريب (٤)

شاهد المجهر الالكترونى الماسح الموجود بالمعمل المركزى ، تتبع إعداد العينة للفحص ، ولاحظ طريقة فحصها ، اكتب ملاحظاتك .



شكل (١-٢) : مسار الإلكترونات بالمجهر الإلكترونى النافذ

الدرس العملى الثانى

التعقيـــــم Sterilization

الغرض من التعقيم هو الإبادة الكاملة لجميع الكائنات الحية الموجودة بالأدوات أو المواد أو البيئات الغذائية الجارى استعمالها ، سواء فى أعمال الميكروبيولوجـــى أو المزارع النسيجية أو الأغذية أو فى الأغراض الطبية .

ويتم التعقيم باستعمال طرق متعددة منها الحرارة والترشيح والاشعاع ، ويعتبر استعمال الحرارة أكثر الطرق شيوعا فى التعقيم .

التعقيم بالحرارة Sterilization by heat

ويتم بأحدى طريقتين : الحرارة الجافة Dry heat ، أو الحرارة المصحوبـــة برطوبة Moist heat ، ويلاحظ أن التعقيم بالحرارة الجافة يحتاج الى مـــدة أطـــول ودرجة حرارة أعلى من التعقيم بالحرارة الرطبة ، أى أن الرطوبة تساعد على تخلـــل الحرارة جسم الكائن الحى فيتأثر بروتوبلازم الخليه بسرعة .

أ – التعقيم بالحرارة الجافة وتشمل

١) استعمال اللهب المباشر Flame

ويستخدم فى ذلك لهب بنزن لتعقيم الأدوات التى تتحمل التعرض للهب ، مثـــل ابر التلقيح والشرائح الزجاجية وأغطيتها وأفواه أنابيب المزارع ، وذلك بتمرير هـــذه المواد فى اللهب عدة مرات .

وتعقم المشارط والهاون ويد الهاون بغمسها فى الكحول ثـــم يشـــعل الكحـــول بتعريضه للنار ، وتكرر العملية عدة مرات .

٢) الهواء الساخن Hot-air

ويستخدم فى ذلك جهاز خاص يسمى المعقم بالهواءالساخن Hot air sterilizer، وتستعمل هذه الطريقة أساسا لتعقيم الأدوات والأوانى الزجاجية الجافة ولايمكن تعقيمها فى اللهب المباشر ، مثل أطباق بترى وزجاجات العينة والماصات والدوارق وخلافـه . وعند تعقيم هذه الأدوات فان الماصات وأطباق البترى توضع فى علب معدنية خاصـــة تسمى علب التعقيم ، ثم توضع هذه العلب داخل المعقم ، ثم تحفظ مغلقة بعد تعقيمـــها لحين استعمالها ، أما الأنابيب والدوارق فتوضع بعد سدها بسدادات قطنية فى أســـبتة من السلك ، وتغطى هذه بالورق الكرافت قبل تعقيمها .

ودرجة الحرارة المستعملة فى تعقيم هذه الأدوات بهذه الطريقة هـــى ١٨٠°م لمدة نصف ساعة وذلك عند تعقيم الأدوات الزجاجية غير المغطاه بســدادات قطنيــة كأطباق بترى ، أما الأدوات المغطاه بسدادات قطنية كالماصات والأنابيب والـــدوارق الفارغة ، فان الدرجة التى تستخدم هى ١٦٠°م لمدة ساعة حتى لايتكربن القطـــن أو يحترق .

والمعقم بالهواء الساخن عبارة عن فرن كهربائى به أرفف ، وله منظم خـاص (ترموستات) لضبط درجة الحرارة أوتوماتيكياً كما يوجد به ترمومتر .

ويراعى عند التعقيم بهذه الطريقة الاحتياطات التالية :

١- أن تكون الأدوات المراد تعقيمها تامة الجفاف .

٢ - أن توضع الأدوات فى المعقم قبل البدء فى تسخين الجهاز .

٣ - أن تترك الأدوات فى المعقم بعد إنتهاء التعقيم الى أن تبرد تماماً .

لأن التبريد أو التسخين الفجائى للأدوات قد يسبب كسرها ، كما أن فتـــح العلـــب المحتوية على أطباق بترى أو الماصات قبل أن تبرد ، قد يتسبب فى تلوثها نتيجـة دخول هواء خارجى قد يكون محملاً بالميكروبات .

٤- لاتصلح هذه الطريقة لتعقيم البيئات المحتوية على ماء ، نظراً للحـــرارة العاليـــة المستعملة فى التعقيم .

ب) التعقيم بالحرارة المصحوبة برطوبة (أى باستخدام البخار)

ويكون ذلك بإحدى الطرق الآتية :

١) التعقيم بالبخار بدون ضغط أى على درجة ١٠٠°م

وتسمى هذه الطريقة أيضاً بطريقة التعقيم بالبخار المنســـاب Steam sterilization أو بطريقة التعقيم المتقطـــع بالبخـــار Intermitant sterilization ، والجهاز المستعمل يسمى جهاز أرنولد Arnold .

وتستعمل هذه الطريقة فى تعقيم البيئات التى تتغـــير خواصــها الطبيعيـــة أو الكيماوية إذا ماتعرضت لدرجة حرارة أعلى من ١٠٠°م ، مثل بيئة السكريات وبيئـــة اللبن وبيئة الجيلاتين ، وتعقم هذه المواد بتعريضها للبخار لمدة ٢٠ دقيقة يومياً لمـــدة ثلاثة أيام متعاقبة مع ترك مدة مقدارها ٢٤ ساعة بين كل مرة وأخرى ، ولهذا يســـمى بالتعقيم المتقطع . وفى هذه الطريقة فان الخلايا تقتل فى اليـــوم الأول بينمـــا لاتتـــأثر الجراثيم ، وهذه بتركها فى البيئة فى جو الغرفة لمدة ٢٤ ساعة ، فانها تنبت وتتحـــول

الى خلايا خضرية تقتل بتعريضها لدرجة ١٠٠°م فى اليوم الثانى ، ويجرى التعقيم الثالث للتأكد من قتل جميع الميكروبات وذلك يتم تعقيم البيئة دون أن تتأثر محتوياتها.

٢) التعقيم بالبخار تحت ضغط Steam under pressure

الجهاز المستعمل فى هذه الطريقة يسمى الاوتوكلاف Autoclave أو المعقم بالبخار المضغوط – وتعتبر هذه الطريقة من أحسن وأسرع وسائل التعقيم ، لأن رفع الضغط داخل الجهاز يؤدى الى رفع درجة الحرارة أعلى من ١٠٠°م ، مما يسهل قتل الجراثيم البكتيرية التى تتحمل درجات الحرارة العالية .

ويستعمل الاوتوكلاف أساساً لتعقيم البيئات البكتيرية التى تتحمل درجات الحرارة المرتفعة ، مثل بعض البيئات ذات السكريات الأحادية وآجار الجلوكوز والأجار المغذى ... وغيرها ، وبالإضافة إلى ماسبق فإنه يمكن تعقيم المواد التالية بالأوتوكلاف

١- الشاش والقماش والقطن والفوط والملابس والبلاطى .

٢- سدادات وخراطيم الكاوتش .

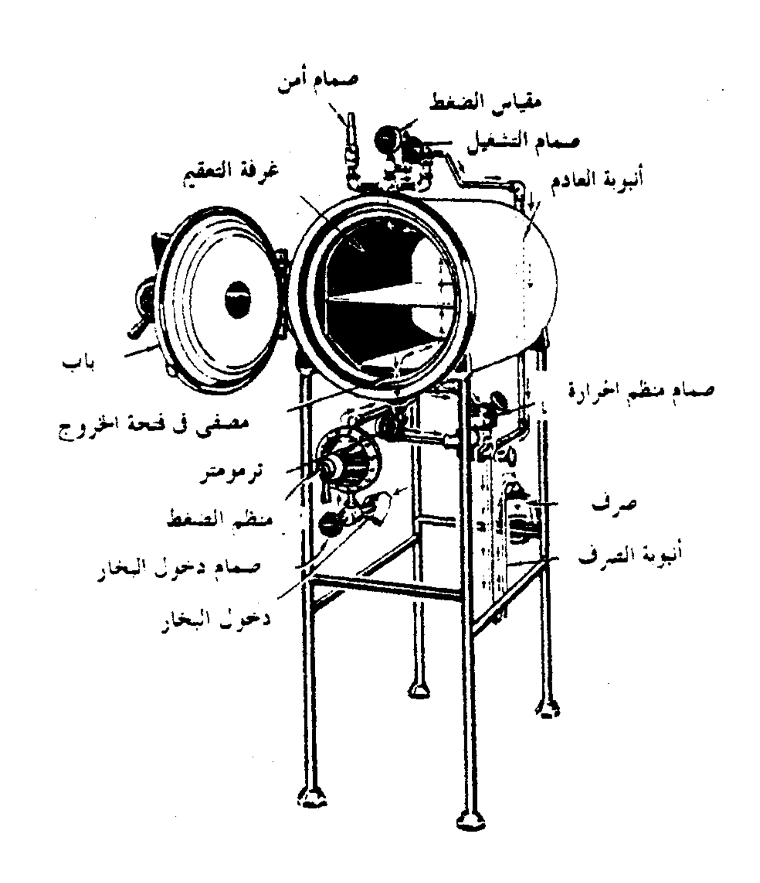
٣ – المرشحات المختلفة مثل مرشح سايتس .

٤ – الأغذية المعلبة .

٥ – المزارع التى يراد التخلص منها بعد إنتهاء العمل بها ، خاصة مزارع البكتريا المرضية .

جهاز الأوتوكلاف Autoclave

عبارة عن إناء معدنى سميك (شكل ٢–١) يتحمل الضغط ، وله غطاء سميك يثبت به بمشابك لولبية مركب عليها صنبور ومانومتر لقياس الضغط وصمام أمن وترمومتر ، ويوجد فى قاع الجهاز علامة يضبط عندها مستوى الماء قبل الاستعمال ، كما أن بداخله أرفف مناسبة يوضع عليها الأدوات المراد تعقيمها ويسخن الماء بالجهاز من أسفل بالغاز أو بالكهرباء .



شكل (٢-١) : التركيب الأساسى للأوتوكلاف (المعقم بالبخار المضغوط)

ولتشغيل الجهاز يوضع الماء بقاع الجهاز حتى العلامة ، ثم توضع الأدوات المراد تعقيمها على حامل خاص ، ثم يقفل الغطاء بإحكام ويسخن ، على أن يترك الصنبور مفتوحاً لخروج كل الهواء ، وعند خروج البخار باستمرار يقفل الصنبور ، وعندئذ فإن الضغط داخل الجهاز يرتفع حتى يصل الى الدرجة المطلوبة ويعرف ذلك بقراءة المانومتر وبذلك تكون درجة الحرارة قد وصلت الى الدرجة المطلوبة ، وعند ذلك يترك الجهاز على هذا الضغط للمدة المطلوبة بضبط اللهب ، وبعدها يطفأ اللهب فينخفض الضغط تدريجياً حتى يصل الى الصفر (أى الضغط الجوى العادى) ، ويفتح

بعد ذلك الصنبور ويكشف الغطاء وتستخرج الأدوات المعقمة ، وتحفظ لحين الاستعمال .

والفكرة فى استعمال هذا الجهاز ، انه بغليان الماء فى جو مغلق فان الضغط داخل الجهاز يرتفع ، ويرتفع تبعاً لذلك درجة غليان الماء عن ١٠٠°م فتزداد درجة حرارة البخار المحبوس ، ولقد درج المانومتر ، الملحق بالجهاز بحيث أن القراءة صفر تساوى الضغط الجوى العادى أى تساوى ١٥ رطل على البوصة المربعة ، وعلى ذلك فان الضغط الذى يبينه المانومتر هو ضغط ظاهرى ، أما الضغط الحقيقى فيساوى الظاهرى مضافاً إليه ضغط جوى واحد أى ١٥ رطل / بوصة^{2} ، وعادة مايستخدم فى التعقيم ضغط ظاهرى ١٥ رطل / بوصة^{2} لمدة ١٥ - ٢٠ دقيقة .

وعند التعقيم باستعمال الاوتوكلاف يراعى الآتى :

١- أن تكون كمية الماء الموجودة بالبخار كافية .

٢ - التأكد من خروج جميع الهواء الموجود بداخل الجهاز قبل قفل الصنبور ، إذ أن وجود الهواء مع البخار بالجهاز يقلل من درجات الحرارة الممكن الوصول اليها لأن الهواء موصل ردىء للحرارة الموجودة بالجهاز مما يقلل من وصول الحرارة الكافية الى المواد المراد تعقيمها ، وبذلك فانه يكون سبباً فى عدم كفاءة التعقيم .

٣ - الوصول الى الضغط المطلوب والمدة المطلوبة .

٤ - عدم فتح الصنبور أو الغطاء إلا بعد أن ينخفض ضغط الجهاز الى الضغط الجوى العادى حتى لايحدث فوران شديد للبيئات السائلة نتيجة للخفض المفاجىء فى الضغط الجوى ونزع سدادات الأنابيب وفقد جزء من محتويات البيئة ، وفشل عملية التعقيم . علاوة على خطورة ذلك على العاملين بالمعمل .

٥ - المواد الغروية تحتاج الى فترة أطول فى التعقيم من المحاليل الحقيقية ، كما أن المواد المتعادلة تحتاج الى مدة أطول عن المواد الحامضية أو القلوية .

التعقيم بالترشيح Sterilization by Filteration

كثير من المواد مثل بعض السكريات وسيروم الدم والأنزيمات والتوكسينات ، تتحلل بالحرارة المستعملة فى التعقيم ، ولتعقيم هذه المواد ، إذا كانت سوائل أو مواداً فى محلول ، يستعمل الترشيح لإزالة الميكروبات منها ، بحجز ثقوب المرشح للميكروبات ، أو بإدمصاص المرشح لتلك الميكروبات لإختلاف الشحنات الكهربائية بينهما .

والمرشحات أنواع متعددة حسب نوع المادة المصنعة منها ، والمرشحات ذات ثقوب يتراوح قطرها من أقل من ميكرومتر إلى عدة ميكرومترات ، وعادة مايسحب السائل خلال المرشح بمساعدة مضخة تفريغ .

ومن المرشحات المستعملة فى التعقيم :

مرشح سايتس Seitz (أقراص من الأسبستوس المضغوط) ، ومرشحات الزجاج المصنفر Sintered glass المصنعة من الزجاج المسامي ، ومرشح تشاشمبرلاند Chamberland وهو مصنوع من الخزف غير المصقول ، والمرشحات الغشائية Membrane filters .

المرشحات الغشائية :

يعتبر المرشح الغشائى (شكل ٢-٢ ، ٢-٣) ، من المرشحات المستعملة بكثرة فى أعمال التعقيم ، لسهولة الإستعمال وإمكان التخلص من أغشية الترشيح بعد الاستخدام بسهولة ، وأكثر أنواعه استعمالا ، المرشحات المعروفة بالمليبور Millipore filters .

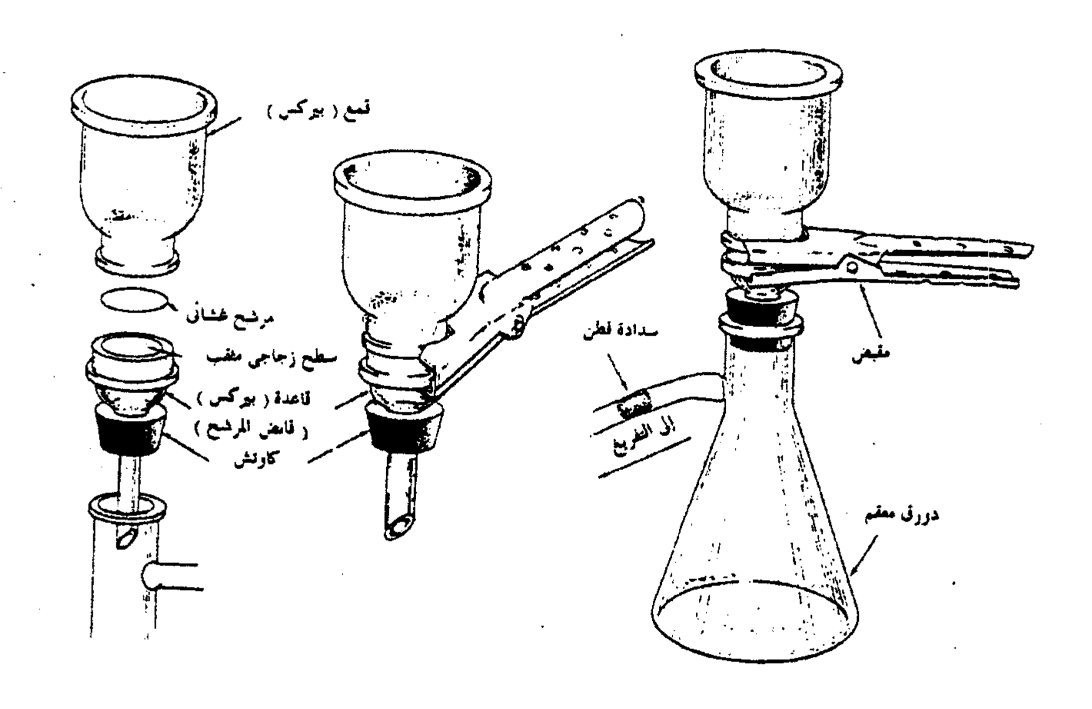
والمرشحات الغشائية عبارة عن استرات سليلوز أو أغشية من البلاستيك ، ثقوبها ذات حجم صغير ، عادة حوالى ٠,٤٥ ميكرومتر وهى تكفى لحجز البكتريا ، ومنها أنواع ذات ثقوب أصغر تزيل بكفاءة الفيروسات والجزيئات الدقيقة . وعادة ماتوضع الأغشية عند الإستعمال فى جهاز خاص يثبت فى دورق مخروطى زجاجى، ويوصل هذا بمضخة تفريغ .

تدريب

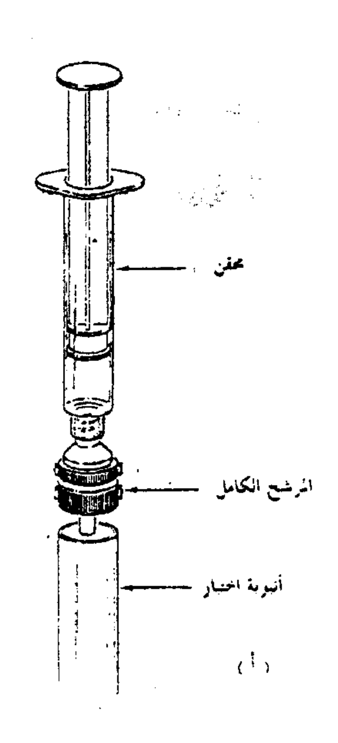
- إفحص العرض الخاص بالمرشحات المستعملة كوسائل للتعقيم - إرسم جهاز المرشح الغشائى ، وبين الأجزاء على الرسم .
- تتبع إحدى عمليات التعقيم الجارية بجهاز الأوتوكلاف بالمختبر ، منذ إعداد المادة ، وتعقيمها ، وحتى إخراجها من الجهاز .

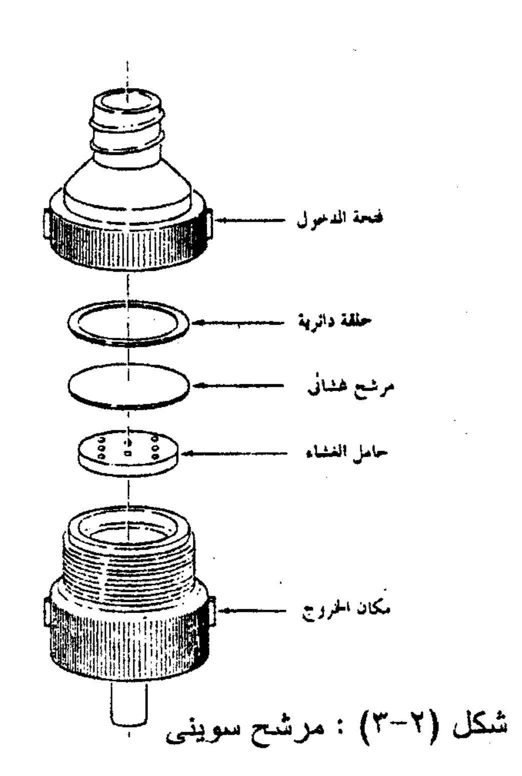
أسئـــــلة

- ماهى النظرية التى تعتمد عليها عملية التعقيم المتقطع ؟
- أيهما اكثر كفاءة فى عملية التعقيم ، الحرارة الجافة أم الحرارة الرطبة ، ولماذ ؟
- ماهى الطريقة المناسبة لتعقيم بيئة تحتوى على سيروم الدم ؟
- كيف تتأكد من كفاءة التعقيم بجهاز الأوتوكلاف ؟



شكل (٢-٢) : جهاز المرشح الغشائى





شكل (٢-٣) : مرشح سوينى

الدرس العملى الثالث

صبغ الكائنات الدقيقة وفحصها

Staining and Examining of Microorganisms

(١) صبغ البكتريا

يمكن إجراء الفحص المورفولوجى لخلايا البكتيريا بطريقتين :

١ – فحص الخلايا الحية دون صبغها ، كما يحدث فى فحص حركة البكتريا .

٢ – فحص الخلايا الميتة المصبوغة بالصبغات (شكل ٣-١) .

والبكتريا الحية عديمة اللون تقريباً ، ويصعب رؤيتها بوضوح ، لذلك فإن صبغ البكتيريا تجعلها واضحة عند رؤيتها تحت المجهر ومميزة عن الوسط الموجودة فيه .

الصبغات البسيطة Simple stain

الغـرض مـن التمريـن : تحضـير غشـاء مـن ميكـروب الخمـيرة *Saccharomyces* sp. وكذا من ميكروب *Bacillus subtilis* كل على حدة .

الأدوات المستخدمة

١- مزرعة من ميكروب الخميرة النامى على آجار الجلوكوز عمرها ٤٨ ساعة .

٢ - مزرعة من ميكروب *B. subtilis* النامى على الأجارالمغذى عمرها ٤٨ ساعة.

٣- شرائح زجاجية نظيفة ، وصبغة الصفرانين وأزرق المثيلين .

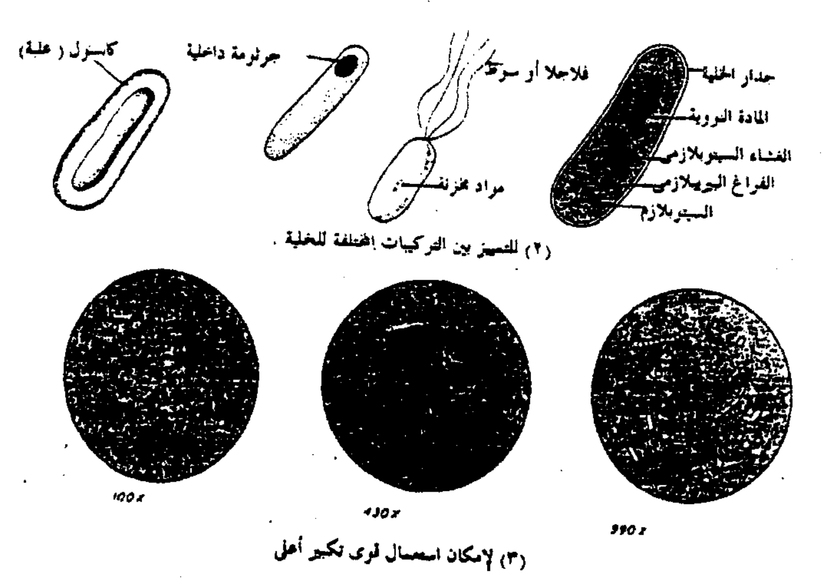
أ) تحضير الغشاء

١- تنظف الشريحة جيداً لإزالة أى آثار دهنية عليها ، ثم تعرض للهب قليـلاً ثـلاث مرات للتعقيم الجزئى ولإزالة أى آثار دهنية مازالت عالقة بها .

٢ - توضع الشريحة على حامل الشرائح على أن يكون السطح السابق تعريضه للـهب الى أعلى .



(١) للتمييز بين الأشكال المختلفة للكائنات الحية الدقيقة .



(٢) للتمييز بين التركيبات المختلفة للخلية .

(٣) لإمكان استعمال قوى تكبير أعلى

شكل (٣-١) : أسباب استعمال التحضيرات المصبوغة

٣- تعقم إبرة التلقيح ذات العقدة وذلك بوضع السلك فى اللهب رأسيا حتى درجة الاحمرار لقتل الميكروبات التى قد تكون عالقة على سطحها ، ثم توضع نقطة ماء فوق الشريحة بواسطة عقدة الابرة السابق تعقيمها وذلك إذا كانت المزرعة صلبة ، إما إذا كانت المزرعة سائلة فلا داعى لوضع نقطة ماء .

٤ - تعقم الإبرة ثانية ثم تمسك أنبوبة المزرعة باليد اليسرى ، وبواسطة خنصر وراحة اليد اليمنى ترفع السدادة القطنية ، وتعرض فوهة الانبوبة الى اللهب ثم يؤخذ جزء من النمو الميكروبى بواسطة الإبرة السابق تعقيمها .

٥- تعقم فوهة الأنبوبة ثانية ثم توضع السدادة القطنية مكانها وتوضع المزرعة فى حامل الأنابيب فىوضعها الأصلى .

٦ - أمزج ماعلق بالأبرة من الميكروب فى نقطة الماء الموضوعة على الشريحة ، ثم أنشر المعلق على مساحة مناسبة بحيث تسمح بظهور الغشاء رقيقا (مساحة قدرها ١ سم^{٢} على الشريحة) .

٧ - تعقم ابرة التلقيح ثانية بتعريضها للهب الى درجة الاحمرار قبل وضعها فى حامل الابر (يجب أن تعقم الابرة قبل وبعد استعمالها مباشرة ويتخذ ذلك قاعدة أساسية) .

٨- يجفف الغشاء بتعريض الشريحة الى أعلى اللهب بحوالى ١٥ - ٢٠ سم ، بحيث لايغلى الغشاء الموجود على الشريحة .

ب) تثبيت الغشاء

يثبت الغشاء بتمرير الشريحة فى اللهب ٥ - ٦ مرات من ناحية سطحها السفلى (الغشاء فى السطح العلوى) ، وذلك بغرض عدم زوال الغشاء أثناء عملية الصبغ .

ج) الصبغ

١ - توضع الشريحة على حامل الشرائح ثم يوضع عليها قليل من صبغة الصفرانين Safranin ، بحيث تغطى كل الغشاء وليس كل الشريحة ، واتركها لمدة نصف دقيقة .

٢ -تغسل الصبغة من الغشاء وذلك بتعريضها الى تيار ماء خفيف .

٣ -يجفف الغشاء فى قطعة ورق من النشاف ثم على اللهب .

د) فحص الغشاء بأستعمال العدسة الزيتية

١ - يوضع المصباح الكهربائى أمام المجهر ، ويضبط هذا الضوء باستعمال العدسة الشيئية الصغرى بالاستعانة بالمرآه والمكثف ، حتى يشاهد المجال الميكروسكوبى مضاء إضاءة عالية ومتجانسة .

٢ - توضع نقطة زيت سيدر على الغشاء ، ثم تحرك القطعة الأنفية حتى تصبح العدسة الزيتية فى خط واحد مع أنبوبة المجهر ، ثم يدار الضابط الكبير حتى تغمس العدسة الزيتية فى نقطة الزيت قبل أن تلامس الشريحة مباشرة ، مع الاحتراس الشديد حتى لايحدث ضرر للعدسة الزيتية وتتكسر الشريحة نتيجة لاحتكاكها .

٤ - بواسطة الضابط الصغير ترفع أنبوبة الميكروسكوب الى أعلى حتى يرى الغشاء. تكرر نفس الخطوات السابقة لعمل غشاء من ميكروب الخميرة وصبغة بأزرق المثيلين Methylene blue .

ويعمل أيضا غشاء من ميكروب *B. subtilis* وصبغه بالصفرانين ثم غشاء آخر وصبغه بأزرق المثيلين .

(٢) تحضير النموذج الفطرى وفحصه

تجهز عينة الفطر للفحص المجهرى بأخذ جزء من النمو الفطرى النامى على الآجار المائل فى حالة الفطريات المترممة ، أما فى حالة الفطريات المتطفلة ، فيتم ذلك بعمل كشط من النمو الخارجى للفطر ، أو سلخ البشرة بما عليها من نمو فطرى* أو بقطع جزء من العينة النباتية المصابة بالفطريات .

يحمل التحضير فى ماء وذلك للتحضيرات المؤقتة ، أو فى بيئة* اللاكتوفينول للتحضيرات المستديمة ، وذلك على شريحة زجاجية ، ثم التسخين الهين ، وإضافة نقطة من غروى الجلسرين على التحضير والتغطية بغطاء الشريحة . وبعد جفاف وتماسك بيئة التحميل ، يفحص التحضير بالقوة الصغرى ثم الكبرى للمجهر .

خذ جزء بطرف الأبرة من ميسليوم الفطر *Rhizopus nigricans* ، وحمله فى لاكتوفينول مضاف له صبغة ، وأفحص التحضير بالقوة الصغرى ثم بالقوة الكبرى للمجهر .

---

* يحضر اللاكتوفينول بالنسب التالية :

٢٠ جم بلورات فينول ، ٢٠ جم حامض لاكتيك ، ٤٠ جم جلسرين ، ٢٠ مل ماء مقطر

(٣) الصبغات المركبة Differential Staining

تستعمل فى هذه الطرق أكثر من صبغة واحدة ، ويعرف هذا النوع من الصبغ أيضا بالصبغ التفريقى Differential staining ، وخاصة عندما تجرى التفرقة بين البكتيريات تبعا لقابليتها للأصباغ المستعملة ، وعلى أساس ذلك يمكن تقسيم البكتيريات إلى مجاميع مختلفة تبعا لتفاعلها مع الصبغة .

وتعتبر صبغة جرام من أهم طرق الصبغ المركب أو التفريقى المتبعة فى الدراسات البكتيرولوجية .

أ - صبغة جرام Gram Stain

أهم طرق الصبغ المركب أو الصبغ التفريقي وأول من إستعملها (كريستيان جرام عام ١٨٨٤ ، Christian Gram) ، لذلك فهى تعرف بأسمه ، وعند إتباع هذه الطريقة نجد أن بعض البكتيريات تصبغ بالصبغة القاعدية (الكريستال البنفسجى Crystal Violet) فى وجود اليود ، بدرجة لايمكن معها إزالة الصبغة من الخلايا

عن طريق الغسيل بالكحول ، فى حين أن البعض الآخر من خلايا البكتيريا يمكن إزالة الصبغة منها بسهولة باستعمال الكحول . والمجموعة الأولى من البكتيريات تعرف بالبكتيريا الموجبة لجرام Gram positive bacteria . أما المجموعة الثانية فهى تعرف بالبكتيريا السالبة لجرام Gram negative bacteria . ولتسهيل رؤية خلايا المجموعة الثانية تستعمل صبغة أخرى ذات لون أحمر مثل الصفرانين ، والتى تضاف بعد الغسيل بالكحول وتسمى بالصبغة المضادة Counter stain ، حيث تصطبغ الخلايا السالبة بعدها باللون الأحمر .

ويبدو أن التفسير الحقيقى لهذا الإختلاف يرجع إلى أسس كيميائية ، إذ أن سطوح الخلايا الموجبة لصبغة جرام أو الجزء القريب من سطوحها ، يحتوى على كميات من ملح المغنسيوم لحمض الريبونيوكليك Ribonucleic acid ، والتى تكون مركب معقدا مع كل من البروتين الخلوى وصبغة الكريستال البنفسجية واليود . وهذا المركب المعقد يثبت الصبغة فى الخلية ، ويجعلها أكثر مقاومة للإزالة عند الغسيل بالكحول .

أما البكتيريا السالبة لصبغة جرام فإن التركيب الكيماوى لسطح خلاياها لايحتوى على حمض الريبونيوكليك والمغنسيوم ، لذلك فإن صبغة الكريستال البنفسجي لاتثبت فى الخلايا بالطريقة السابق وصفها، فهى تزال عند الغسيل بالكحول.

خطوات العمـــــل

١ – يحضر غشاء من كل من الميكروبات السابقة وثبت الغشاء كما سبق فى التمريـــن السابق .

٢ – توضع الشرائح على حامل الشرائح ، ثم يغمر كل غشاء بمحلول الجنسيان لمـــدة دقيقة واحدة ، ثم صب الصبغة من على الغشاء وأغسل بالماء .

٣ – أغمر الغشاء بمحلول اليود لمدة دقيقة ثم اغسل بالماء .

٤ – أغمر الغشاء بالكحول ٩٥% ، مع امالة الشريحة الى الأمام والى الخلف وكـــرر هذه العملية حتى يصبح لون الكحول المزال رائقا (بنفسجى خفيف جدا) ثم اغســل بالماء.

٥ – أضف صبغة الصفرانين المخفف لمدة نصف دقيقة وأغسل بالماء .

٦ – جفف الشريحة وأفحص بالعدسة الزيتية كالمعتاد .

تدريـــــــب

– حضر غشاء من كل من ميكروبات

E. coli, *B. subtilis*, *Saccharomyces*

أصبغ كل منها بطريقة جرام ، إفحص بالعدسة الزيتية ، صف وأرسم ماتشـــاهده ، مبينا نتيجة الصبغ .

أسئلـــــة

- هل يمكن رؤية حركة البكتريا فى الأغشية المصبوغة ؟
- متى تستعمل الصبغ البسيط للبكتريا ومتى تستعمل الصبغ المركب ؟
- لايصلح فحص الغشاء المصبوغ دون تثبيته ، لماذا ؟
- هل لعمر المزرعة الجارى فحصها تأثير على نتيجة الصبغ ، ولماذا ؟
- ماهو تأثير الرقم الايدروجينى على نتيجة تفاعل صبغة جرام ؟
- ماأهمية التبرعم فى خلايا الخميرة التى فحصتها ؟
- ماأهمية كل من الهيفات التى تنمو على سطح البيئة ، وتلك التى تخـــترق البيئـــة ، بفطر رايزوبس الذى فحصته ؟

الدرس العملى الرابع

البيئات الغذائية Nutritive Media

البيئة الغذائية عبارة عن وسط سائلا أو صلبا مزود بالاحتياجات الغذائية ، يستخدم لتنمية الكائنات الدقيقة ، ولإكثار الأنسجة ، والبيئات الغذائية متعددة الأنواع بسبب إختلاف الكائنات فى إحتياجاتها الغذائية ، وإختلاف الغرض الذى تستعمل من أجله البيئة .

وقد تكون البيئة طبيعية غير محددة التركيب ، بمعنى أن مكوناتها وكميات تلك المكونات غير معروفة بالضبط ، مثل بيئة النسيج الحى وبيئة الدم وبيئة مستخلص التربة الزراعية .

وقد تكون البيئة صناعية مجهزة معمليا ، وهى بذلك بيئة محددة التركيب معروف مكوناتها والتركيزات الداخلة فى تركيبها .

وبالإضافة إلى ذلك ، فهناك بيئات سائلة مثل بيئة المرق المغذى ، وأخرى صلبة مثل بيئة الآجار المغذى ، والبيئة الصلبة التى توجد بحالة صلبة على درجة حرارة الغرفة ، وهى عبارة عن بيئة سائلة أضيف لها مواد مصلبة للبيئة مثل الآجار أو الجيلاتين للبكتريا الهتروتروفية أو السليكا جل لتنمية البكتريا الاوتوتروفية .

عموما ، فإن جميع البيئات تتكون من عناصر كبرى مثل مصادر الكربون والنيتروجين ، وعناصر صغرى مثل النحاس والحديد وقد يضاف لها منظمات للحموضة والقلوية ، وبعض المستخلصات العضوية مثل منظمات النمو والفيتامينات ، وذلك بالإضافة إلى الماء ، وتوفير الضغط الأسموزى المناسب ، من الاحتياجات الاكسجينية المطلوبة .

كما يجب ضبط تأثير البيئة الغذائية للرقم الايدروجينى pH المناسب لنمو الكائن النامى ، ويتم ذلك عادة قبل تعقيم البيئة ، وإن كان فى بعض الحالات يجرى ضبط الرقم الإيدروجينى عقب التعقيم .

ومالم يكن للبيئة إحتياجات خاصة للتعقيم ، فإن عملية التعقيم تتم عادة بالحرارة فى جهاز الأوتوكلاف ، على درجة ١٢١°م لمدة ١٥-٣٠ دقيقة ، عند ضغط بخار ١٥ رطل على البوصة المربعة .

البيئات المجففة Dehydrated media

تقوم الشركات المتخصصة بتوريد مستلزمات المعامل ، بتحضير البيئات وعرضها بالأسواق فى صورة مجففة ، وعند الاستعمال يخلط المستحضر بالماء لعمل البيئة السائلة ، كما يضاف الآجار بنسبة ١,٥ - ٢% لتحضير البيئة الصلبة مع مراعاة التعليمات المدونة على غلاف البيئة . وأستعمال البيئات المجففة يوفرالكثير من الوقت والجهد المبذول فى إعداد البيئة .

تحضير البيئة

تتلخص خطوات تحضير البيئة الغذائية فيما يلى :

- وزن المكونات المطلوبة ووضعها فى الوعاء المناسب .
- إذابة المكونات بإضافة كمية الماء المطلوبة للبيئة ، وقد يحتاج الأمر التسخين فى بعض الحالات ، كما فى حالة وجود آجار بالبيئة .
- ضبط الرقم الإيدروجينى بأستخدام جهاز الـ pH meter ومحلول NaOH ٠,١ع، أو محلول HCl ٠,١ ع (حسب ظروف البيئة) .
- ترشيح المحلول وهو ساخن بأستعمال قطن مرطب بالماء الساخن .
- تعبئة البيئة فى العبوات المناسبة ، من أنابيب أو زجاجات أو دوارق ... الخ ، والتغطية بسدادات قطنية .
- التعقيم بالطريقة المناسبة لتركيب البيئة ، ثم الحفظ فى مكان مناسب لحين الاستعمال .

أمثلة لبيئات شائعة الاستعمال

- بيئة المرق المغذى Nutrient broth

بيئة سائلة كثيرة الاستعمال وتصلح لتنمية كثير من أنواع البكتريا الهوائية خليطة التغذية ، كما أنها تعتبر بيئة الأساس فى تحضير كثير من البيئات الأخرى .

تتركب البيئة من ٣ جم مستخلص لحم ، ٣ جم ببتون فى لتر ماء .

- بيئة الآجار المغذى Nutrient agar

بيئة صلبة كثيرة الإستعمال وتعطى مجاميع منعزلة ، وهى عبارة عن بيئة مرق مغذى مضاف لها آجار من ١٥ - ٢٠ جم / لتر .

- **بيئة آجار المولت Malt agar**

بيئة صلبة تصلح لتنمية الفطريات ، وهى تتركب من ٣٠ جم خلاصة المولـت ، ١٥ جم آجار ، لتر ماء

-بيئات كثيرة الاستعمال فى المزارع النسيجية

التركيب	اسم البيئة والتركيب مجم / لتر موراشيج وسكوج Murashige & Skoog	 هوايـــــت White
نترات أمونيوم	١٦٥	-
نترات بوتاسيوم	١٩٠٠	٨٠
نترات كالسيوم	-	٣٠٠
كلوريد كالسيوم	٤٤٠	-
كبريتات مغنسيوم	٣٧٠	٧٥٠
كبريتات صوديوم	-	٢٠٠
فوسفات بوتاسيوم	١٧٠	-
فوسفات صوديوم	-	١٩
كلوريد بوتاسيوم	-	٦٥
Na EDTA	٣٧,٨	٢,٥
كلوريد حديدوز	٣٧,٣	-
كبريتات منجنيز	٢٢,٣	٧
كبريتات زنك	٨,٦	٣
حامض بوريك	٦,٢	١,٥
يوديد بوتاسيوم	٠,٨٣	٠,٧٥
مولبدات صوديوم	٠,٢٥	-
كبريتات نحاس	٠,٠٢٥	-
كلوريد كوبالت	٠,٠٢٥	-

- تابع بيئات كثيرة الاستعمال فى المزارع النسيجية

التركيب	اسم البيئة والتركيب مجم / لتر	
	موراشيج وسكوج Murashige & Skoog	هوايـــــــت White
ميو انوسيتول	١٠٠	–
حامض نيكوتينيك	٠,٥	٠,٥
بيريدوكسين	٠,٥	٠,١
ثيامين	٠,١	٠,١
جلايسين	١,٩	٣,٠
سكروز	٣٠ جم	٢٠,٠ جم
pH	٥,٨	٥,٥

تدريـــــب : حضر بيئة المرق المغذى – أذكر تركيب البيئة ، مميزاتـــها ، مجـــالات استعمالها .

أسئلـــــة

- ليس من الضرورى ضبط الرقم الإيدروجينى لبيئة المرق المغذى ؟ لماذا ؟

لماذا لايمكن إنماء بعض أنواع من الكائنات الدقيقة على البيئة المحددة التركيب ؟

- لماذا يكون الرقم الإيدروجينى للبيئات الفطرية مائلا للحموضة ؟
- ماالفرق بين آجار مغذى عميق ، وآجار مغذى مائل ، وفيما يستعمل كل نوع ؟
- لماذا لايستعمل الآجار لعمل بيئات صلبة لتنمية البكتريـــا الأوتوتروفيـــة ؟ ومـــاهو البديل للآجار ؟

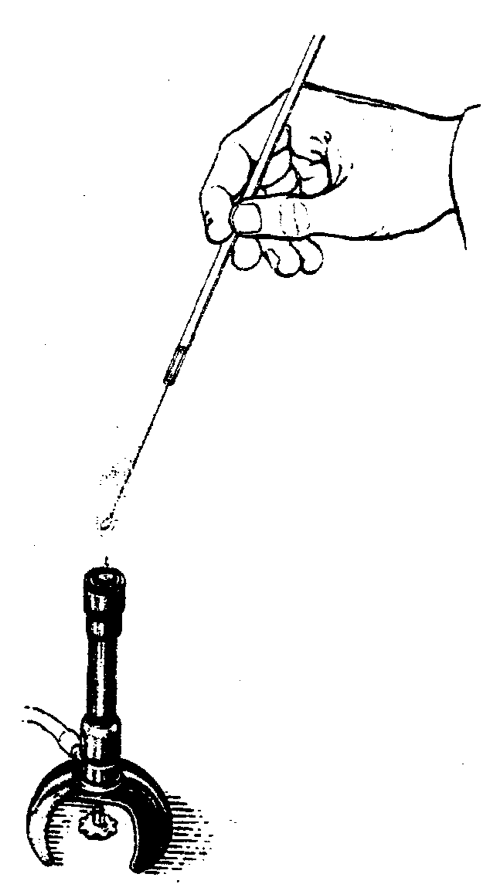
الدرس العملى الخامس

زراعة الكائنات الدقيقة Culturing of microorganisms

اللقاح والتلقيح

لكى تنمو المزرعة البكتيرية فى بيئة معقمة ، فإن عددا من الخلايا يسمى اللقاح Inoculum ينقل إلى البيئة بواسطة إبرة التلقيح Inoculating needle ، مع أخذ الإحتياطات المناسبة للمحافظة على نقاء المزرعة .

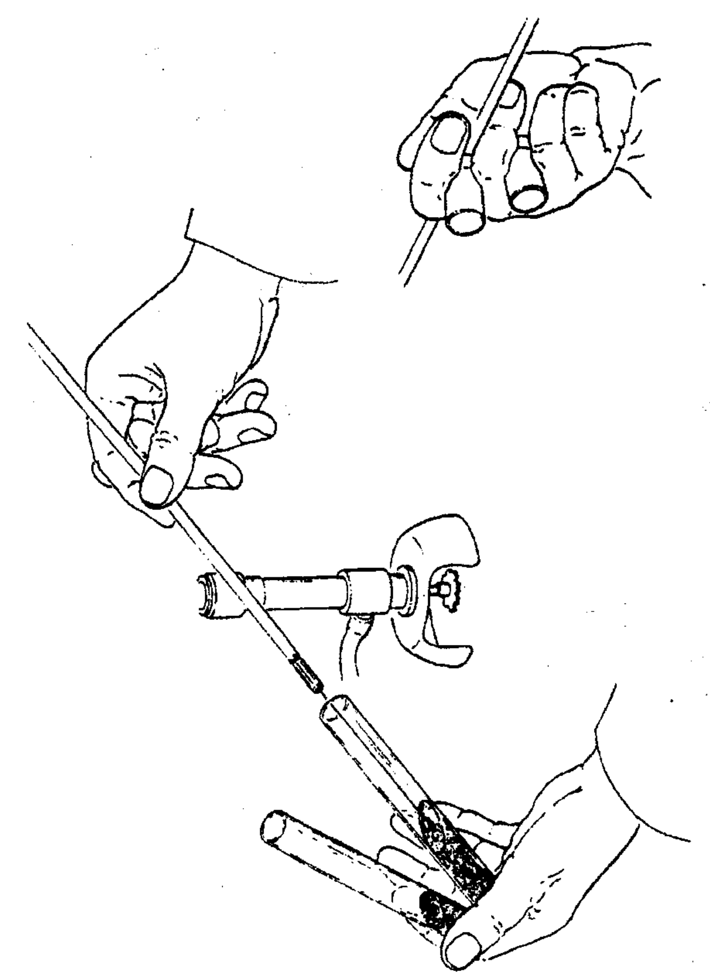
وعند عملية التلقيح يجب أن تعقم الإبرة المستعملة فى نقل الميكروبات قبل وبعد النقل (شكل ٥-١) .



شكل (٥-١) : سخن إبرة التلقيح فى اللهب حتى الاحمرار ، قبل وبعد التلقيح

كما يراعى مسك أنابيب المزارع ونقل اللقاح بالطريقة الصحيحة (أنظر الشكل ٥-٢) .

وعقب إجراء عملية التلقيح ، تحفظ المزرعة البكتيرية أو تحضن فى وسط مناسب للنمو .



شكل (٥-٢) : الطريقة الصحيحة لمسك الأنابيب أثناء نقل المزارع

التنمية فى البيئة السائلة

الطريقة السهلة لتداول البكتريا ، هى تنميتها فى مزرعة سائلة بأنبوبة إختبار.

ويظهر النمو فى المزرعة السائلة بطرق مختلفة ، فقد يكون

- **تعكير** : حيث يكون النمو فى المزرعة السائلة على شكل سحابه مختلفة الكثافة .
- **راسب** : حيث يتكون راسب من الخلايا بقاع أنبوبة المزرعة السائلة ،
- **غشاء على سطح المزرعة السائلة** : حيث تطفو كتل صغيرة من الخلايا على سطح المزرعة السائلة .

طريقة العمل

استعمل أربعة أنابيب محتوية على بيئة المرق المغذى لإجراء المعاملات الآتية :

١- أترك أنبوبة بدون تلقيح ، مع عدم نزع غطائها القطنى .
٢- أنزع غطاء الأنبوبة الثانية وأضف اليها كمية صغيرة من التراب ، أو مادة غريبة أخرى . أعد الغطاء للأنبوبة .
٣- بعد تعقيم إبرة التلقيح وفوهة الأنبوبة الثالثة باللهب ، لقح بمزرعة نقية من *Escherichia coli* ، وبنفس الطريقة لقح الأنبوبة الرابعة بميكروب *Micrococcus luteus* .
٤- حضن الأنابيب الأربع على درجة ٣٠°م حتى الدرس العملى التالى .

ملاحظــــــات

إفحص أنابيب المزرعة السائلة للنمو البكتيرى . لاترج الأنابيب قبل أخذ ملاحظاتك الأولية عن تكوين غشاء أو حدوث راسب ، ويتم النمو الكامل لمعظم الأنواع البكتيرية بالمزرعة السائلة ، خلال ٢٤-٤٨ ساعة من التحضين .

ترسب تماما بعض الخلايا الثقيلة مثل الخمائر إذا ماتركت على حاملها بدون تحريك ، تاركة الجزء العلوى من المزرعة السائلة خالية تقريبا من النمو ، وكاحتياط عام فإنه إذا أريد النقل من هذه المزرعة ، يجب التأكد من تحويل اللقاح الى معلق بالمزرعة .

التنمية فى البيئة الصلبة Agar slope, slant

الآجار المائل Agar slope, slant عبارة عن أنبوبة إختبار تحتوى على بيئة آجار، وضعت على سطح مائل أثناء تبريدها لتجميد الآجار . محتويات الأنبوبة المعاملة بهذه الطريقة تتصلب مكونة سطحا مائلا من السهل تلقيحه بإبرة التلقيح المستقيمة ، أو ذات العقدة.

ويوفر لنا الآجار المائل ، طريقة مناسبة لزرعة الكائنات الدقيقة خاصة الأنـــواع الهوائية، واللاهوائية اختيارا . كما أن الصفات المزرعية للكائنات النامية – مثل تكوين الصبغات – من السهل ملاحظتها على مزارع الآجار المائل .

وتعتبر طريقتى الآجار المائل Agar slope وآجـــار الوخـــز Agar stab – اللتين تستعملان فى زراعة الكائنات الدقيقة على المزارع الصلبة – من الطرق الشائعة فى حفظ المزارع الميكروبية Maintaining stock cultures ، كما تعتـــبر طريقـــة آجار الوخز مفيدة عند الحاجة الى توفير ظروف لاهوائية أكثر بالمزرعة .

طريقة العمـــــل

١- اصهر ثلاث أنابيب آجار مغذى فى ماء مغلى ، ثم برد الأنابيب على سطح مائل.

٢- بعد تصلب الآجار ، لقح سطح آجار الأنبوبة الأولى بميكـــــروب *Escherichia coli* باستخدام إبرة التلقيح . حرك الإبرة برفق على سطح الآجار من أســـفل الـــى أعلى . حاذر من الضغط على الإبرة حتى لاتجرح الآجار ، أو تقطعه .

بنفس الطريقة ، لقح سطح أنبوبة الآجار التالية بميكروب *Micrococcus luteus* – أترك الأنبوبة الثالثة بدون تلقيح للمقارنة .

٣- حضن الأنابيب الثلاثة على درجة ٣٠°م حتى الدرس العملى التالى .

ملاحظـــــات

إفحص النمو السطحى المتكون . لاحظ طريقة النمو السطحى المتكون لبكتيريـــا *E. coli* على البيئة الصلبة والتى تختلف تماما عن تلك النامية فى المزرعة السائلة .

التنمية اللاهوائيـــــة Anaerobic culturing

تختلف أنواع البكتريا من حيث احتياجها للأكسجين الغازى ، فبعضها لاينمـــو فى غياب الاكسجين ويسمى هوائى Aerobic ، والآخر ينمو فى غيـــاب الأكســـجين الحر ، ويسمى لاهوائى Anaerobic ، ومنها مايستطيع النمو فى وجود أو فى غيـــاب الأكسجين ، ويسمى اختيارى Facultative .

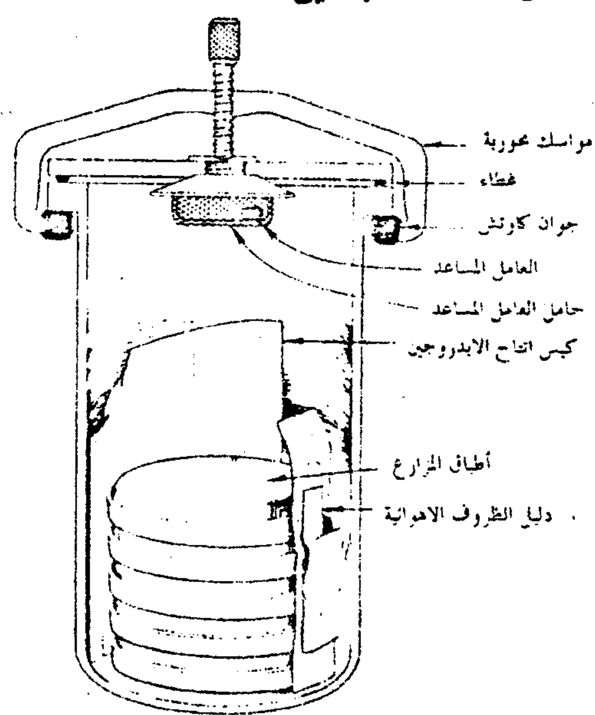
ويتم حماية المزارع اللاهوائية من الاكسجين الحر بعدة طرق ، منها :

١ - التخلص من الأكسجين الموجود بالمزرعة بالغليان ، ثم منع إعادة دخوله فيها ، بتغطيه المزرعة بطبقة عازلة من الفاسبار ، أو الزيت المعدنى بعد عملية التلقيح. وتناسب هذه الطريقة عدة بيئات مثل البيئات المستخدمة فى إختبارات التخمر .

٢ - إضافة مادة مختزلة للبيئة مثل ثيوجليكولات الصوديوم $HSCH_2$ - COONa ، وهذه المادة تتفاعل مع اكسجين البيئة ، وتستعمل فى البيئات السائلة وفى الآجار الذى يصب فى الأطباق لتوفير الوسط اللاهوائى .

٣ - إزالة الاكسجين من الجو الموجود فى وعاء مغلق بعدة طرق ، منها استخدام جهاز ماكنتوش وفيلدز McIntosh & Fields أو وعاء برروور Brewer jar أنظر الشكل ٥-٣) أو بطرق أخرى مشابهة ، ويلاحظ أن الوعاء يحتوى على كيس به مادة قادرة على انتاج CO_2 و H_2 ، عند إضافة الماء لها .

وفى الوعاء يتم تحضين الأطباق والأنابيب ، بعد التخلص من الأكسجين الموجود بالوعاء ، وذلك بإجراء تفاعل بين الايدروجين والأكسجين الموجودين بالوعاء ، بإستخدام عامل مساعد كالبلاتين .



شكل (٥-٣) : وعاء برروور للتنمية اللاهوائية مع استخدام الايدروجين

طريقة العمـــل

١ - تتم إسالة أنبوبتين من آجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة فى حمـام مـائى ، أو باستخدام البخار . استمر فى التسخين لمدة ١٠ دقائق للتخلص مــن الأكسـجين المذاب فى البيئة ، برد الأنابيب فى حمام مـائى حتـى ٤٥°م ، ولقـح إحداهـا بمزرعـة *Clostridium perfringens* والأخـرى بمزرعـة *Clostridium sporogenes* مع التلقيح الكثيف ، والتوزيع الجيد للقاح .

٢ -لقح أنبوبة من مرق الثيوجليكولات بعد غليانها وتبريدها بكـل مــن المزرعتيـن السابقتين .

٣ -لقح أنبوبتين من مرق الجلوكوز ، ومستخلص الخميرة بعد غليانها وتبريدها ، بكل من المزرعتين اللاهوائيتين، مع تغطية أنبوبة من كل مجموعة بطبقة سـمكها ٢ سم من آجار معقم (٥%) أو فاسبار مسال .

٤ -خطط طبق بيئة آجار بكل من المزرعتين اللاهوائيتين . ضع الطبق فــى وعـاء التنمية اللاهوائية . اقطع ركن ورق القصدير لكيس تفـاعل إنتـاج الإيدروجيـن (Gas pak, BBL) ، وضع فيه ١٠ مل ماء بسرعة ، ثم ضعه فى داخل الوعاء اللاهوائى مع الأطباق الملقحة . تأكد من أن غطاء الوعاء اللاهوائى يحتوى علـى شبكة السلك الخاصة بالعامل المساعد اللازم للتفاعل ، احكم غلق غطاء الوعــاء بواسطة مسامير الربط .

٥ -حضن المزارع على ٣٧°م وإفحصها فى الدرس العملى التالى . إفحص مـزارع بيئة آجار الجلوكوز المهتزة لوجود المستعمرات ، ولاحظ المنطقة التى يحدث فيها النمو من الأنبوبة . ولاحظ إن كانت هناك أى مظاهر لإنتاج غاز .

إفحص سطح أنابيب الآجار المائل بدقة لملاحظة وجود مسـتعمرات ناميـة ، وقارن بين نمو تلك المحضنة لاهوائيا مع تلك المحضنة هوائيا . إفحص أنـابيب فـى بيئة مرق الثيوجليكولات ، وبيئة مرق الجلوكوز ، ومستخلص الخميرة لوجود النمـو ، ولاحظ أين يحدث النمو فيها ، ولاحظ أيضا رائحة المزارع .

أسئـــلة

- أثناء نقل اللقاح ، تكون انبوبة المزرعة التى يؤخذ منها اللقاح بيـن الأصـابع فـى وضع أفقى تقريبا ، ويقرب اللهب منها ، ولاتترك مفتوحة أكثر من اللازم ، لماذا ؟

- فى مزرعة ميكروبية سائلة بأنبوبة إختبار ، أين تتوقع وجود الميكروبات الهوائيـة والإختيارية واللاهوائية ؟ وماعلاقة ذلك بجهد الأكسدة والإختزال للبيئة ؟

- عرف التنفس ، والتخمر ، والتنفس اللاهوائى .
- لماذا لايؤدى ذوبان الأكسجين فى بيئة الثيوجليكولات إلى تثبيط نمو الميكروبات اللاهوائية.

عزل الميكروبات وتنقيتها Isolation of pure cultures

توجد البكتريا فى الطبيعة مختلطة مع بعضها ، ولدراسة خواص كل نوع يتحتم عزله بحالة نقية ، بحيث لايصبح فى المزرعة إلا نوع واحد من الميكروبات وهو المراد دراسته . وتجرى عملية العزل بعدة طرق منها :

١ - العزل بالأطباق المصبوبة Pouring plate method

٢- العزل بالأطباق المخطوطة Streaking plate method

١- عزل البكتريا بطريقة الأطباق المصبوبة

أعطيت مزرعة مختلطة لميكروبين أحدهما سالب لجرام والآخر موجب لجرام، كيف يمكنك عزل كل ميكروب بحالة نقية باستخدام طريقةالأطباق المصبوبة .

الغرض من هذه الطريقة هو تخفيف المزرعة ، بحيث عند تنمية الميكروبات فى أطباق ، تنمو بعيدة عن بعضها فى مجاميع أو مستعمرات منعزلة عن بعضها ، كل مستعمرة ناتجة عن ميكروب واحد أى فى مستعمرات نقية .

الأدوات المستعملة

١ - أنابيب آجار مغذى عميق .

٢- أطباق بترى معقمة .

٣ - مزرعة مختلفطة تحتوى على *Micrococcus* sp., *E. coli*

٤ - ترمومتر .

٥ - أنابيب آجار مغذى مائل

٦- صبغة جرام .

طريقة العمـــــل

١- سيح ثلاث أنابيب آجار مغذى عميق على حمام مائى يغلى ، ثم بـــرد الـــى ٥٠°م بأستعمال الترمومتر .

٢- لقح الأنبوبة الأولى بغمس إبرة من المزرعة المختلطة تحت ظروف التعقيم ثم رج الأنبوبة بين راحتى اليد لتوزيع البكتريا فيها .

٣ - خذ بالإبرة المعقمة ٢ غمسة ابرة من الأنبوبة الاولى وانقلهما الى الانبوبة الثانيـة تحت ظروف التعقيم ، ثم رج الانبوبة جيداً كما سبق .

٤- خذ بالإبرة المعقمة ٣ غمسات من الأنبوبة الثانية وانقلهم الى الأنبوبة الثالثة ، ثـم رجها أيضاً .

٥- صب الأنابيب الثلاثة فى ثلاث أطباق بترى معقمة مع تحريك الطبق بعد الصـب حركه دائرية خفيفة منتظمة ، حتى يتوزع الآجار المغذى فى كل مساحة الطبــق ، ثم رقم الأطباق بالأرقام ١ ، ٢ ، ٣ وأتركها ليجمد الآجار ، ثم ضع الأطباق فـــى المحضن مقلوبة على ٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة .

٦- بعد إنتهاء فترة التحضين ، اختر بعض المستعمرات المنعزلة المتبــاعدة وأعمـل منها غشاء وأصبغه بطريقة جرام وأفحصه ، فإذا ظهر من الفحص بأن المســتعمرة نقية فيلقح منها أنبوبة آجار مائل وتحضن لتنمو ، وبذلك تحصل على مزرعة نقيــة لكل من الميكروبين .

عزل البكتريا بطريقة الأطباق المخطوطة

الغرض من التخطيط هو تقليل عدد البكتريا العالق بأبرة التلقيح ، بحيث فـــى نهاية خطوط التلقيح تصبح الميكروبات متباعدة فى الطبق ، وتنمو وتكون مســتعمرات منعزلة نقية .

الأدوات المطلوبة مثل التدريب السابق

طريقة العمــــــل

١ - سيح أنبوبتى آجار عميق فى حمام مائى يغلى ، ثـم يـبرد الـــى ٥٠°م وصـــب محتويات كل أنبوبة فى طبق بترى معقم مع ادارة الطبق بهدوء ، حتـــى يتــوزع الاجار فى كل الطبق بانتظام .

٢ - اترك الأطباق حتى يتجمد ا™éجار .

٣ - خذ بأبرة التلقيح بعد تعقيمها غمسة ابرة من المزرعة المختلطة ، ثم افتح الطبق بمقدار مايسمح بدخول الابرة ، وخطط الاجار بخفة بخطوط متوازية بين كل منهما مسافة حوالى ١ سم ، مع الحرص من عدم تجريح ا™éجار.

٤ -بنفس الابرة بدون تعقيمها أو أخذ غمسة جديدة خطط الطبق الثانى .

٥ -رقم الأطباق وضعها فى المحضن مقلوبة على درجة ٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة .

٦ -بعد انتهاء فترة التحضين ، إفحص الأطباق ، أختر مستعمرات منعزلة وأجرى عليها ماسبق فى التمرين السابق للحصول على مزارع نقية على الآجار المائل .

حفظ المزارع المعملية Preservation of Laboratory Cultures

تحفظ المزارع البكتيرية بالمختبر لحين طلبها ، والأساس فى عملية الحفظ هو الإعتماد على ظاهرة إيقاف النمو البكتيرى ، للمحافظة على المزرعة بدون نمو أو تكاثر وبدون حدوث تغيرات وراثية أو فسيولوجية لها .

والطريقة الشائعة لحفظ الميكروبات لفترات طويلة ، هى طريقة التجفيد ، وفى هذه الطريقة ، يعمل معلق للمزرعة البكتيرية فى بيئة معقمة من اللبن أو سيروم الدم ، أو مواد مشابهة تضاف للمعلق الخلوى لحمايته من التجميد ، وذلك فى أنابيب زجاجية صغيرة ، ثم تجرى عملية تجميد سريع للمزرعة فى خليط من الثلج الجاف والكحول ، ثم تجفف المزرعة المجمدة بعناية تحت تفريغ بالنشاف ، ليتبخر منها الماء ولايحدث تكسير للخلايا ، وفى النهاية تلحم الأمبولات المحتوية على المزرعة المجففة .

ومثل هذه المزارع المجفدة يمكن أن تحفظ فى أمبولاتها لسنوات عديدة دون أن يحدث لها تلفاً .

الدرس العملى السادس

التقدير الكمى للنمو الميكروبى Microbial Quantitative Determination

التقدير الكمى الميكروبى هو الأساس فى كثير من الدراسات الأساسية والتقليدية ، ويوجد طرق عديدة لتقدير النمو الميكروبى كمياً ، سواء بتقدير أعداد الخلايا الحية ، أو بحساب كتلة الخلايا .

وتفيد الطرق التى تقدر أعداد الخلايا ، فى عدّ الكائنات الحية وحيدة الخلية كالبكتريا والخميرة والبروتوزوا ، أما طرق تقدير كتلة الخلايا فهى تستعمل مع أنواع الميكروبات الخيطية كالفطريات التى لايمكن عدها بتقدير عدد الخلايا .

من الطرق المستخدمة لعد الخلايا الميكروبية :

- طريقة العد المباشر بالمجهر .
- طريقة العد بالأطباق .

التقدير المباشر لعد الخلايا بالمجهر

يعتبر العد بالمجهر من أكثر الطرق استعمالاً للعد المباشر ، وفى هذه الطريقة ، ينشر حجم معلوم من العينة على مساحة محددة بالشريحة ، ثم تعد الميكروبات فى مساحة معلومة ، وبالحساب ، يقدر عدد الميكروبات الموجود فى العينة الأصلية . وتتميز طريقة العد بالمجهر بسهولة إجرائها ، وسرعة الحصول على نتائجها ، إلا أنها طريقة مجهدة للنظر ، ولاتمكن الفاحص من تمييز الخلايا الحية عن الخلايا غير الحية ، كما يصعب بواسطتها تمييز الميكروبات عن الوسط الموجود به .

طريقة العمل

١ – أمامك مزرعة حديثة السن من كل من *E. coli, Bacillus subtilis* نامية فى بيئة المرق المغذى لمدة ساعة .

٢ – حضر شريحتين عاديتين نظيفتين . ضع كل منهما فوق قطعة من الورق رُسم عليها مربع مساحته ١ سم٢ ، بحيث يقع المربع فى منتصف الشريحة .

٣ – رج أحد المزارع البكتيرية جيداً ، ثم انقل كمية ٠,٠١ مل من المزرعة إلى وسط المربع بأحد الشرائح بواسطة ماصة معقمة ومدرجة سعة ٠,١ مل .

وبواسطة ماصة أخرى انقل نفس الكمية من المزرعة الأخرى الى وسط المربع فى الشريحة الثانية (يمكن نقل الكمية بأستعمال إبرة زرع ذات عقدة سعتها ٠,٠١ مل) .

٤ - أفرد الكمية المنقولة على جميع مساحة المربع بكل شريحة بواسطة إبرة التلقيح المستقيمة المعقمة .

٥ - جفف الشريحة على سطح مستو دافىء بحيث يتم التجفيف خلال خمس دقائق . ثم ثبت الغشاء بالتسخين (فى حالة تقدير عدد البكتريا باللبن تؤخذ كمية ٠,٠١ مل من اللبن ويحضر منها غشاء مثبت ، ولكن يزال مايحتويه من دهن بتعريض الغشاء المثبت إلى الزيلول ثم يترك الغشاء ليجف ، ثم يغمر بعدها بكحول الايثايل ٩٥% لمدة دقيقة ثم يترك الغشاء ليجف بالهواء) .

٦ - يصبغ الغشاء بصبغة أزرق المثيلين لمدة نصف دقيقة ثم تغسل الشريحة بالماء وتجفف .

٧ - إفحص عشرة حقول مجهرية مسجلاً عدد الميكروبات فى كل حقل على حدة .

٨ - أحسب عدد الخلايا فى ١ مل من المزرعة الأصلية المختبرة ، ولإجراء ذلك تحسب أولاً مساحة الحقل الميكروسكوبى على أساس المعادلة (ط نق ٢) ، ويمكن قياس قطر الحقل بالاستعانة بالشريحة الميكرومترية الشيئية . ولما كانت كمية المزرعة المستعملة ٠,٠١ مل ، وهى تنتشر فى مساحة ١ سم٢ ، فانه بتقسيم هذه المساحة على مساحة الحقل المجهرى ، يمكن التعرف على عدد الحقول المجهرية فى مساحة الغشاء ، ومن حاصل ضرب متوسط عدد الخلايا البكتيرية بالحقل الواحد × عدد الحقول المجهرية ، يمكن الحصول على عدد الخلايا فى كمية ٠,٠١ مل من العينة المستعملة . ويضرب الناتج × ١٠٠ نحصل على عدد الخلايا فى ١ مل من المزرعة أو العينة المستعملة .

وبذلك فإن حساب أعداد الميكروبات فى ١ مل من المزرعة

= متوسط عدد الميكروبات فى الحقل × عدد الحقول فى ١ سم٣ × ١٠٠

التقدير غير المباشر لعد الخلايا بطريقة الأطباق

يعتبر عدّ الخلايا الميكروبية بطريقة الأطباق Plate counting method ، من الطرق الشائعة فى العد ، وتبنى هذه الطريقة على الفرض بأن الخلية الواحدة من البكتريا ، أو كتلة الخلايا (الوحدة المكونة للمستعمرة ,Colony-Forming Unit CFU) ، تنمو لتكون مستعمرة واحدة بطبق بيئة الآجار ، وأن عدد المستعمرات

المتكونه بالطبق ، يعادل عدد الخلايا الموجودة بالتخفيف المستعمل ، وبالحساب يقدر عدد الخلايا البكتيرية الموجودة بالعينة الأصلية .

يمكن بهذه الطريقة تقدير عدد الخلايا الحية ذات القدرة على التكاثر فى الظروف المناسبة لنموها . لذلك يجب استعمال البيئة الغذائية المناسبة . وظروف التحضين المثالية للنوع البكتيرى المراد تقدير عدد خلاياه بأستعمال طريقة العد بالأطباق .

خطوات العمل

١ - رج المزرعة البكتيرية النامية فى بيئة المرق المغذى جيداً لكى تتوزع بها الخلايا بانتظام . ثم أنقل ١ مل منها بواسطة ماصة معقمة الى أنبوبة تحتوى على ٩ مل ماء معقم أو بيئة معقمة لتحصل على تخفيف ١:١٠ أى $١٠^{-١}$.

٢- رج المعلق المخفف جيداً بالأنبوبة ثم انقل منها ١ مل بواسطة ماصة معقمة أخرى الى أنبوبة تحتوى على ٩ مل ماء معقم أو بيئة معقمة لتحصل على تخفيف ١:١٠٠ أى $١٠^{-٢}$.

٣- كرر الخطوة السابقة عدة مرات حتى تحصل على تخفيفات تصل الى $١٠^{-٦}$ ، $١٠^{-٧}$ ، $١٠^{-٨}$ ، مستخدماً ماصة معقمة فى كل مرة .

٤ -انقل ١ مل من كل من التخفيفات الأخيرة $١٠^{-٦}$ ، $١٠^{-٧}$ ، $١٠^{-٨}$ الى طبق بترى معقم مع مراعاة تحضير طبقين لكل تخفيف .

٥- أضف الى كل طبق كمية كافية (لاتزيد عن ١٥ مل) من بيئة الآجار المغذى المسالة والمبردة الى درجة ٤٥°م . أخلط محتويات كل طبق جيداً وذلك بتحريكه بهدوء الى الأمام والى الخلف عدة مرات ثم أتركه ليتصلب .

٦ -ضع الأطباق فى الحضان وهى فى وضع مقلوب على درجة ٣٧°م لمدة يومين.

٧ -انتخب التخفيف المناسب الذى يظهر عدد من المستعمرات يتراوح بين ٣٠-٣٠٠ مستعمرة بالطبق الواحد . إحسب متوسط عدد المستعمرات بالطبق الواحد .

٨- أحسب عدد الخلايا الحية فى ١ مل من المزرعة الأصلية ، وذلك بضرب متوسط عدد المستعمرات فى الطبق فى مقلوب التخفيف المستعمل به .

وتعتبر طريقة العد بالأطباق من أهم طرق العد فلها جملة مميزات أهمها :

١- أن هذه الطريقة تقدر عدد الميكروبات الحية فقط لأن الميكروبات الميتة لن تنمو فى الأطباق .

٢ - الطريقة سهلة الإجراء .

٣ - الامكانيات المطلوبة لها متوفرة فى جميع المعامل البكتريولوجية .

وبالرغم من ذلك فإن هذه الطريقة لاتخلو من عيوب أهمها :

١- أنها تعطى أعداد أقل كثيراً من الواقع ، وذلك لأن المستعمرة المتكونة والتى نعتبرها ناتجة عن ميكروب واحد ، قد تكون ناشئة عن سلسلة من الميكروبلت أو كتلة من الميكروبات .

٢ - أنه لاتوجد بيئة بكتيرية تغطى الاحتياجات الغذائية لجميع أنواع الميكروبات الموجودة بالتربة ، وبالتالى فأن كثيراً من أنواع الميكروبات لن تنمو فيها لعدم توافر مواد معينة لازمة لنموها .

٣ - أن الميكروبات الاوتوتروفية لاتنمو فى البيئات العضوية والعكس صحيح .

٤ - أن ظروف التحضين والبيئة الملائمة من درجة حموضة وغيرها ، تختلف من ميكروب لآخر ، وبالتالى فان الميكروبات التى تنمو فى الأطباق هى التى تلائمها الظروف المتوفرة خلال إجراء عملية العد .

٥ - أنها تحتاج الى وقت طويل للحصول على النتائج .

تقدير كتلة الخلايا الميكروبية

قياس كتلة الخلايا الميكروبية الموجودة فى مزرعة ما ، هو تقدير كلى للبروتوبلازم الخلوى الميكروبى الموجود فى واحد ملليمتر (أو واحد جرام) من تلك المزرعة ، ومن تلك الطرق :

- طريقة قياس التعكير .
- طريقة الوزن الجاف .

طريقة قياس التعكير Turbidimetric Method

تعمل المزرعة البكتيرية كمعلق غروى ، يحجب ويعكس الضوء المار خلالها . وفى حدود معينة .. فإن الضوء الذى يمتص Absorbed أو ينعكس

Reflected بواسطة معلق الخلايا ، يتناسب طرديا مع تركيز الخلايا بالمزرعة . وعلى ذلك .. فإنه باستعمال جهاز قياس التعكير Turbidimeter لقياس نسبة الأشعة الممتصة ، يمكن تقدير عدد الخلايا الموجودة بالمعلق البكتيرى .

يستعمل فى هذه التقديرات جهاز قياس الألوان الضوئى Photocolorimeter كجهاز لقياس التعكير Turbidimeter . ويعتمد دقة الجهاز على وجود الضوء الأحادى الطول الموجى Single wave length ، وهذا يعتمد عادة على وجود مرشح ضوئى يسمح فقط بنفاذ الطول الموجى المرغوب من الضوء ، ويمر الضوء النافذ من المرشح خلال المزرعة البكتيرية . تقاس كمية الضوء المنعكس Reflected ، أو النافذ Transmitted من المزرعة ، بواسطة خلية ضوء كهربية متصلة بجلفانومت.

فى طرق قياس التعكير يمكن أن يُعبر عن قدرة المزرعة على حجب الضوء بنسبة الضوء النافذ . وفى حدود معينة .. فإن هذه النسبة تتناسب عكسياً مع تركيز الخلايا بالمزرعة . وعادة فإنه من الأفضل أن يعبر عن التعكير بإمتصاص الضوء (Absorbance) وهذا يتناسب طردياً مع تركيز الخلايا بالمزرعة .

عند استخدام طرق التعكير لقياس النمو البكتيرى ، فإن درجة تعكير المزرعة البكتيرية ترتبط بتقديرات أخرى معلومة للنمو البكتيرى مثل : العدد الكلى للبكتريا المقدر بطريقة العد بالأطباق . لذلك .. فإنه بعمل منحنى قياسى Standard curve يوضح العلاقة بين الامتصاص وعدد الميكروبات ، فإنه يمكننا معرفة عدد الميكروبات بمعرفة كمية الضوء الممتص .

طريقة الوزن الجاف Dry weight method

يمكن استخدام الوزن الجاف لخلايا ، أو لميسليوم ، من حجم معلوم لبيئة النمو ، لتقدير كتلة الخلايا . وفى مثل هذه الطرق ، يجمع النمو من المزرعة بواسطة الطرد المركزى ، أو بواسطة الترشيح ، ثم تغسل الخلايا ، وتجفف على درجة ١٠٥°م لعدة ساعات ، وتبرد ، وتوزن .

أسئلـــــة

- لماذا تعطى طريقة عد الميكروبات بالمجهر أعداداً أكبر من طريقة العد بالأطباق ؟

- لماذا تحضن أطباق بترى الجارى تحضينها لتقدير النمو البكتـــيرى ، مقلوبـــة فـــى المحضن ؟

- لماذا تختار أطباق بترى المحتوية على ٣٠-٣٠٠ مستعمرة بكتريا ، فى العد ؟

- هل هناك إختلافات مظهرية بين المستعمرات السطحية وتحت الســـطحية الناميـــة بطبق آجار بترى ؟

- ماهو المقصود بمصطلح الوحدة المكونة للمســـتعمرة Colony-Forming Unit, CFU ؟

- لماذا تغير الماصات بين التخفيفات ؟

- هل تصلح طريقة قياس التعكير ، لتقدير النمو الميكروبـــى فـــى جميـــع المـــزارع السائلـــة ؟